

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

Hybridní nanokompozitní materiály

Hybrid nanocomposite materials

Autor:

Bc. Kateřina Šulcová

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.

Ostrava 2017

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Kateřina Šulcová**

Studijní program: N3942 Nanotechnologie

Studijní obor: 3942T001 Nanotechnologie

Téma: **Hybridní nanokompozitní materiály**
Hybrid nanocomposite materials

Jazyk vypracování: čeština

Zásady pro vypracování:

Cílem diplomové práce je sledování vlivu metody přípravy, typu nanočástic oxidu kovu a organického léčiva na antibakteriální vlastnosti hybridního nanokompozitního materiálu.

Diplomová práce plynule navazuje na realizovanou bakalářskou práci „Organicko-anorganické nanokompozitní materiály“ (2015). Teoretická část diplomové práce bude řešena formou literární rešerše na téma: hybridní nanokompozitní materiály - definice, typy/členění, základní vlastnosti, antibakteriální aktivita hybridních nanokompozitních materiálů.

V rámci experimentální části budou sonochemickou a mechanochemickou metodou připraveny hybridní nanokompozitní materiály na bázi vermiculit-oxid kovu-chlorhexidine o různém koncentračním zastoupení. Hybridní nanokompozitní materiály budou podrobeny strukturní, fázové a elementární analýze. Antibakteriální aktivita bude hodnocena ve spolupráci se Zdravotním ústavem v Ostravě.

Seznam doporučené odborné literatury:

Sanchez, C., Julia'n, B., Belleville, P., Popall, M. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites. *Journal of Materials Chemistry* 15, 2005, 3559-3592.

Akkari, M., Aranda, P., Rhaïem, B. H., Amara, B. H. A., Ruiz-Hitzky, E. ZnO/clay nanoarchitectures: Synthesis, characterization and evaluation as photocatalysts. *Applied Clay Science* 131, 2016, 131-139.

Avvakumov, G.V., Senna, M., Kosova, N. V. *Soft Mechanochemical Synthesis A. Basis for New Chemical Technologies*. Edition Number 1, Springer US, 2000, 208 p.

Chen, D., Sharma, S. K., Mudhoo, A. *Handbook on applications of ultrasound: sonochemistry for sustainability*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2011, 739 p.

Holešová, S., Štembírek, J., Bartošová, L., Pražanová, G., Valášková, M., Samlíková, M., Pazdiora, E. Antibacterial efficiency of vermiculite/chlorhexidine nanocomposites and results of the in vivo test of harmlessness of vermiculite. *Materials Science and Engineering C* 42, 2014, 466-473.


Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.**

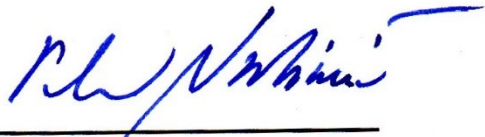
Konzultant diplomové práce: Ing. Sylva Holešová, Ph.D.

Datum zadání: 20.10.2016

Datum odevzdání: 15.05.2017



prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.
vedoucí katedry



prof. Ing. Petr Noskiewič, CSc.
proréktor pro studium

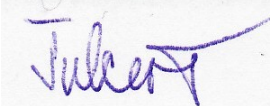


Místopřísežné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Ostravě dne 15.5.2017

podpis:

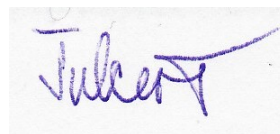


Prohlášení o využití výsledků práce

Prohlašuji, že:

- jsem byla seznámena, že se na moji diplomovou práci plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména § 35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního a § 60 – školní dílo.
- беру на ве́доміі, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen „VŠB – TUO“ má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě diplomovou práci užít (§ 35 odst. 3).
- souhlasím s tím, že diplomová práce bude v elektronické podobě uložena v Ústřední knihovně VŠB – TUO k nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o kvalifikační práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB – TUO.
- было с́еднано, že s VŠB – TUO v případě zájmy z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.
- было с́еднано, že užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).
- беру на ве́доміі, že odevzdáním své práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1988 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů, bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Ostravě dne 15. 5. 2017



Kateřina Šulcová

jméno a příjmení studenta

Břenkova 7, Ostrava 3

adresa trvalého pobytu studenta

Poděkování

Ráda bych poděkovala své vedoucí diplomové práce paní Ing. Karle Čech Barabaszové, Ph.D. za odborné vedení, věcné připomínky a rady, které mi v průběhu psaní diplomové práce poskytla.

Dále velmi děkuji Ing. Sylvě Holešové, Ph.D. za provedení analýzy FTIR a Ing. Marianně Hundákové, Ph.D. za RTG analýzy a pomoc při jejich vyhodnocení.

Abstrakt

Diplomová práce se zaměřuje na podmínky přípravy a charakterizaci antibakteriálních hybridních nanokompozitních materiálů na bázi vermikulit/oxid zinečnatý/chlorhexidin. Cílem práce bylo sledovat vliv podmínek přípravy hybridních nanokompozitních materiálů. Teoretická část charakterizuje základní typy, přípravu, vlastnosti a antibakteriální aktivitu těchto materiálů. Experimentální část se věnuje jejich přípravě pomocí sonochemické nebo mechanochemické metody. Pro charakterizaci byly využity následující metody: rentgenová difrakční analýza (RTG), infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR), analýza distribuce velikosti částic, analýza měrného specifického povrchu a analýza celkového obsahu uhlíku. Antibakteriální aktivita byla stanovena na základě minimální inhibiční koncentrace (MIC) na bakteriální kmeny: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Klíčová slova: *sonochemie, vermikulit, oxid zinečnatý, chlorhexidin, antibakteriální vlastnosti*

Abstract

This master's thesis is focused on preparation and characterization of antibacterial hybrid nanocomposites based on vermiculite/zinc oxide/chlorhexidine. The aim of this work is to compare the influence of fabrication routes on hybrid nanocomposites. Theoretical part defines fundamentals, preparation, properties, and antibacterial activity of these materials. Practical part is concerned with the synthesis of hybrid nanocomposites using either sonochemical or mechanochemical method. Treated samples were characterised by X-ray diffraction (RTG), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), particle size distribution, specific surface area analysis, and total carbon concentration analysis. The antibacterial efficiency was evaluated by finding the minimum inhibitory concentration (MIC) against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *sonochemistry, vermiculite, zinc oxide, chlorhexidine, antibacterial activity*

Obsah

1	ÚVOD	11
2	TEORETICKÁ ČÁST	13
2.1	Nanokompozitní a hybridní nanokompozitní materiály	13
2.1.1	Hybridní nanokompozitní materiály	14
2.2	Anorganické látky pro nanokompozitní materiály	15
2.2.1	Jílové minerály	16
2.2.2	Oxidy kovů	19
2.3	Organické látky pro nanokompozitní materiály	21
2.3.1	Polymery	22
2.3.2	Chlorhexidin	22
2.4	Příprava hybridních nanokompozitních materiálů	23
2.4.1	Mechanochemická metoda	24
2.4.2	Ultrazvuková metoda	26
2.5	Vlastnosti hybridních nanokompozitních materiálů	30
2.5.1	Antibakteriální vlastnosti	31
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	36
3.1	Vstupní materiál	36
3.2	Metody přípravy	36
3.2.1	Mechanická příprava vermikulitu	36
3.2.2	Mechanochemická příprava anorganického nanokompozitního materiálu	36

3.2.3	Ultrazvuková příprava anorganického nanokompozitního materiálu ..	37
3.2.4	Mechanická interkalace organické látky	37
3.2.5	Ultrazvuková interkalace organické látky	38
3.3	Použité analytické metody	39
3.3.1	Rentgenová difrakční analýza	39
3.3.2	Infračervená spektroskopie.....	40
3.3.3	Analýza celkového obsahu uhlíku.....	40
3.3.4	Distribuce velikosti částic	41
3.3.5	Analýza měrného specifického povrchu	41
3.3.6	Antibakteriální testy	42
3.4	VÝSLEDKY A DISKUZE	43
ZÁVĚR		55
LITERATURA.....		57

SEZNAM ZKRATEK

C	Rosetova nádoba
CEC	kationtová výměnná kapacita
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
CH	chlorhexidin
IR spektra	infračervená spektra
M	mechanochemická syntéza
MMT	montmorillonit
RTG	rentgenová difrakční analýza
UZ	ultrazvuk
U	ultrazvuková syntéza
VER, V	vermikulit
ZnO, Z	oxid zinečnatý

1 ÚVOD

Od počátku vzniku světa příroda vyprodukovala materiály nevšedních a jedinečných struktur, barev, tvrdostí, složení a dalších rozmanitých vlastností. Lidstvo a společnost využívaly materiály odjakživa a bylo proto jen otázkou času, kdy se tyto materiály začnou cíleně vytvářet. Velký podíl na současném rozvoji materiálů a jejich aplikací má vědní obor nanotechnologie.

Nanotechnologie byly představeny světu ve druhé polovině 20. století a jejich význam v čase roste. Jedná se o obor zabývající se materiály, kde alespoň jeden z rozměrů dosahuje velikosti menší než sto nm. Vlastnosti a chování materiálů nanometrických rozměrů se mohou zcela lišit od těch v „objemovém“ měřítku. Kupříkladu neprůhledné materiály se stávají průhlednými, stabilní hořlavými, nevodivé vodivými a inertní látky katalyzátory. S rostoucími nároky společnosti si obor nanotechnologie upevňuje nedobytnou pozici mezi nejdůležitějšími a nejproduktivnějšími vědními obory a jejich oblast výzkumu stále narůstá.

Novým příslibem pro zdokonalení a zjednodušení mnoha aplikací je vývoj nanokompozitních materiálů. V dnešní době jsou velice perspektivním oborem a jejich uplatnění zasahuje takřka do všech průmyslových odvětví. Speciálním případem nanokompozitních materiálů jsou hybridní nanokompozitní materiály. Společná kombinace organické a anorganické složky dodává materiálu zcela ojedinělé vlastnosti. Cílem jejich přípravy je vzájemně zkombinovat jejich nejvýhodnější vlastnosti a současně eliminovat nevýhody jednotlivých komponent. Výsledkem jsou pak materiály lehčí, pružnější nebo tvrdší, obohacené o unikátní vodivostní, antibakteriální, fotokatalytické či jiné vlastnosti. V současnosti na trhu převažují hybridní nanokompozitní materiály s organickou maticí a anorganickým plnivem. Organická polymerní matrice snižuje hmotnost výsledného materiálu a zvyšuje jeho pružnost a transparentnost. Úlohou anorganické složky v materiálu je především zdokonalit mechanické vlastnosti. Neobvyklá je opačná struktura, kdy maticí je anorganická část a organická složka zastává funkci plniva. V těchto případech bývají anorganickou maticí zejména jílové minerály umožňující do své struktury zahrnout velké molekuly cizí látky. Organická část pak dodává materiálu nové vlastnosti, např. antibakteriální.

Diplomová práce plynule navazuje a rozšiřuje bakalářskou práci věnovanou přípravě hybridních organicko-anorganických nanokompozitních materiálů na bázi

vermikulit/oxid zinečnatý/chlorhexidin mechanochemickou syntézou (ŠULCOVÁ, K. *Organicko-anorganické nanokompozitní materiály*. Ostrava, 2017. Bakalářská práce. 48 s. VŠB – Technická univerzita Ostrava). Cílem diplomové práce je sledování vlivu podmínek přípravy hybridních nanokompozitních materiálů pomocí ultrazvukové syntézy. V rámci teoretické části diplomové práce je provedena literární rešerše charakterizující základní typy, přípravu, vlastnosti a antibakteriální aktivitu hybridních nanokompozitních materiálů. Experimentální část se věnuje přípravě hybridních nanokompozitních materiálů mechanochemickou a sonochemickou metodou o různých podmínkách a koncentracích organické složky (chlorhexidinu).

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Nanokompozitní a hybridní nanokompozitní materiály

Nanokompozitní materiály lze definovat na základě znalosti teorie kompozitních materiálů. Tyto materiály jsou tvořeny dvěma či více odlišnými složkami, jež společně vytváří ojedinělý materiál. Každá z těchto složek disponuje rozdílnými mechanickými, fyzikálními či chemickými vlastnostmi. Výsledné vlastnosti připraveného materiálu nejsou pouhým součtem, ale vzájemná kombinace jednotlivých složek přináší materiálu vylepšené či zcela nové vlastnosti. Jednotlivé komponenty systému plní funkci matrice nebo plniva (výztuže). Matrice je základním stavebním kamenem kompozitního materiálu, je spojitá a jejím hlavním úkolem je pojit jednotlivé složky dohromady. Dále přenášet napětí na disperzní fázi a chránit před vnějšími vlivy okolí. Plnivo je nespojitou složkou systému, jehož funkcí je zpevnit matici. Vyskytuje se v objemové hmotnosti 0,5-5 % [1].

Na základě velikosti plniva lze kompozitní materiály rozdělit na materiály: makrokompozitní (mm-cm), mikrokompozitní (μm) a nanokompozitní (nm). Nanokompozitní materiály jsou materiály, ve kterých rozměr alespoň jedné ze složek dosahuje velikosti menší než sto nanometrů. Stejně tak, jako je tomu v případě makrokompozitních a mikrokompozitních materiálů, lze materiály nanokompozitní rozdělit podle typu matrice na keramické, kovové, anebo polymerní. Také plniva lze rozdělit do jednotlivých kategorií na základě jejich dimenzionality [2]:

3D – Všechny tři rozměry částice jsou v měřítku nanometrů. Plnivo má převážně kulovitý tvar, např. částice oxidu křemičitého (SiO_2).

2D – Dva rozměry plniva mají nanometrickou velikost, zatímco třetí je v rozsahu mikrometrů. Zde patří např.: vlákna, nanotrubičky nebo whiskery.

1D – Pouze jeden z rozměrů má velikost nanometrů zbylé dva rozměry existují v rozsahu mikrometrů, např. vrstevnaté silikáty.

Konečné vlastnosti nanokompozitního materiálu nejsou dány pouze vlastnostmi jednotlivých komponentů, ale závisí především na morfologii, mezifázových vlastnostech a kritické velikosti plniva. Pokud nanoplňniva přesáhnou svou kritickou velikost, dochází ke změně a zdokonalení materiálových vlastností v důsledku vylepšených interakcí na fázovém rozhraní.

Zakomponování nanometrického plniva do matrice tedy vytváří vysoce výkonné materiály s unikátními vlastnostmi a ojedinělým designem. Proto se nanokompozitní materiály staly materiály 21. století. Jejich odhadované roční tempo růstu se pohybuje okolo 25 % a je odrazem nejrychlejší poptávky v oblasti plastů a elastomerů. Potenciál je tak enormní, že je lze využít téměř ve všech průmyslových odvětvích. Od potravinářského průmyslu, přes elektroniku, stavebnictví, až k biomedicínským aplikacím. Zahrnují nejen přípravu zcela nových materiálů, ale také vylepšují doposud využívané aplikace. Například super tvrdý nanokompozitní materiál na bázi $(\text{Al}_{1-x}\text{Ti}_x\text{N})/\alpha\text{-Si}_3\text{N}_4$ je průmyslově využíván jako tribologický povlak pro suché řezací nářadí. Nanokompozitní materiály na bázi uhlíkaté nanotrubičky/keramické nanokompozitní materiály jsou díky své pevnosti a odolnosti využívány v leteckém a sportovním průmyslu. Tepelně odolné polymerní nanokompozitní materiály nahradily dříve využívané těžké kovové slitiny. Uplatnění našly obzvláště při výrobě ochranného oblečení a odlehčených komponentů vhodných pro práci při vysokých teplotách (např.: plášť trykových letadel a karoserie aut). Kombinací s vhodným plnivem pak dosahují nízkých hustot a velice vysokých pevností [2].

2.1.1 Hybridní nanokompozitní materiály

Hybridní nanokompozitní materiály se na Zemi vyskytují od pradávna. Je pozoruhodnou vlastností přírody umět kombinovat v nanoměřítku organické a anorganické komponenty a vytvořit tak inteligentní přírodní materiály s rozmanitými vlastnostmi. Mayská modř je představitelem nejstaršího hybridního nanokompozitního materiálu. Molekuly modrého barviva-indiga zapouzdřené uvnitř kanálků jílového minerálu jsou nejen odolné vůči biodegradaci, ale také vykazují stabilitu vůči kyselině, zásadě nebo organickému rozpouštědlu. Je tedy nutné konstatovat, že nejstarší a nejznámější hybridní nanokompozitní materiály pochází z éry starověkého malířství. Studium hybridních materiálů se však stalo velice žádaným oborem až v posledním desetiletí [3].

K rozvoji ve velké míře přispěl vývoj polymerních látek a vznik měkkých chemických procesů přípravy. Obzvláště sol-gel metoda představuje příznivou cestu pro syntézu hybridních nanokompozitních materiálů za nízkých reakčních teplot, při kterých nedochází ke zničení organické složky [4].

Výběr vhodné organické látky závisí především na jejím mechanickém a tepelném chování. Zejména teplota zpracování je stěžejním krokem celého procesu. Nezbytné je také zhodnotit její hydrofobní/hydrofilní charakter, chemickou stabilitu, biokompatibilitu,

optické nebo elektrické vlastnosti a chemickou funkcionalizaci. Organická složka ve většině případů poskytuje nanokompozitnímu materiálu lepší zpracovatelnost a snadné tvarování, kdežto anorganické komponenty zajišťují především mechanickou a tepelnou stabilitu. Navíc rozdílné typy anorganických látek mohou dodat materiálu zcela nové vlastnosti. To je ovlivněno především chemickou povahou, strukturou, velikostí a krystalinitou anorganické fáze [4].

V současnosti se potenciální aplikace stávají skutečnými, začínají vyplňovat mezery na trhu a v budoucnosti je očekáván jejich ohromný nárůst. Výzkum těchto progresivních nanokompozitních materiálů v důsledku rozsáhlých investic firem a vlád každým rokem masivně narůstá. Enormní množství publikací výzkumných týmů stále čeká na svá uplatnění v praxi. Není tedy pochyb, že hybridní materiály v blízké době vytvoří nové chytřejší membrány, katalyzátory, senzory, palivové články nebo léčebný aparát kombinující zobrazovací, léčebné a uvolňovací vlastnosti [3]. Navzdory obrovským možnostem využití je však jejich komercializace odložena z mnoha důvodů. Hlavní příčinou je obtížné rovnoměrné rozptýlení nanočástic v matrici na průmyslové úrovni a s tím také spojené vysoké výrobní náklady.

Převážná část hybridních nanokompozitních materiálů je složena z organické (makromolekulární) matrice a anorganického plniva. Speciálním případem je obrácená kombinace, kdy je organické plnivo rozptýleno v anorganické matrici. Obdobné téma je cílem této diplomové práce. Doposud však nebylo publikováno dostatečné množství literatury a vědeckých publikací zabývajících se hybridními nanokompozitními materiály v tomto uspořádání a problematikou s tím spojenou.

2.2 Anorganické látky pro nanokompozitní materiály

Využití anorganických látek v nanokompozitních materiálech se stalo žádaným komponentem. Důvodem je skutečnost, že anorganické složky dokáží plnit nejen roli matrice, pevně nést a pojít jednotlivé části, ale také sloužit jako velice dobré plnivo. Výslednému materiálu pak přináší zcela nové a neobvyčejné vlastnosti. Mezi používané anorganické látky patří zejména vrstevnaté silikáty, kovy, oxidy kovů a fosforečnany [3].

Anorganické nanočástice mají výborné fyzikální vlastnosti a nanokompozitní materiály vylepšují i v pouze malém procentuálním zastoupení. Velikou nevýhodu anorganických nanočástic však představuje nehomogenní distribuce a tendence k agregaci.

Schopnost udržet nanočástice izolované a rovnoměrně dispergované je primárním cílem pro vytvoření nanokompozitního systému. Proto je v mnoha případech nutné modifikovat povrch nanočástic. Dva nejvyužívanější přístupy modifikace jsou: (i) modifikace pomocí chemického zpracování a (ii) roubování funkčních polymerních molekul k povrchovým hydroxylovým skupinám částic. Následkem těchto procesů dochází ke zmírnění účinků aglomerace a vylepšení disperze v matrici [5].

Anorganické látky se mohou v systému vyskytovat ve třech dimenzionálních formách. Jako zeolity, jílové minerály, oxidy kovů, kovy, fosforečnany nebo $(\text{Mo}_3\text{Se}_3)_n$ řetězce [1].

Vrstevnaté silikáty využívané jako výztuže vylepšují mechanické a tepelné vlastnosti výsledných materiálů. Poslední dobou však zaznamenaly uplatnění také ve funkci matric, jež jsou schopny do své struktury pojmout ionty, atomy či molekuly cizího hosta a sloužit tak jako nosné médium. Kovové materiály a jejich oxidy se nejčastěji jako nanokompozitní materiály vyskytují v následujících uspořádání: kov-kov, kov-oxid kovu nebo oxid kovu-oxid kovu. Dále jsou využívány také samostatně jako plniva vylepšující mechanické, vodivostní či jiné vlastnosti. Obrovského rozmachu v posledním desetiletí zaznamenaly především nanočástice stříbra a oxidu měďnatého (CuO), které jsou do nanokompozitních materiálu zakomponovány s cílem zvýšit antibakteriální vlastnosti [1].

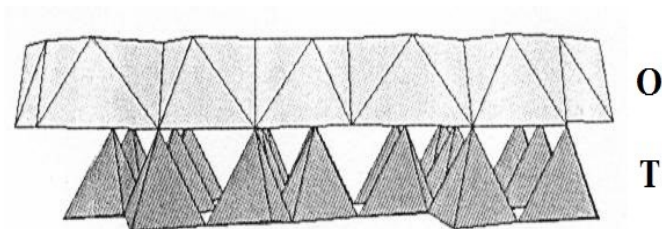
2.2.1 Jílové minerály

Jílové minerály jsou vrstevnaté silikáty (fylosilikáty) přírodního původu, tvořené primárně jemnozrnnými částicemi s průměrnou velikostí menší než 2 μm . Jsou neodmyslitelnou součástí půd a mnoha sedimentačních hornin typu jílu, jílovec a jílové břidlice. Fylosilikáty dodávají jílu plastičnost a po vysušení nebo vypálení je vytvrzují [6].

Vrstevnatá struktura jílových minerálů je výsledkem kombinace tetraedrické (T) a oktaedrické (O) sítě. Základní stavební jednotkou tetraedrické sítě je tetraedr $[\text{SiO}_4]^{4-}$. Centrálním atomem tetraedrů bývá nejčastěji křemík Si^{4+} , ale může být substituován hliníkem Al^{3+} nebo železem Fe^{3+} . Spojením bazálních atomů kyslíku tetraedru vzniká síť [6].

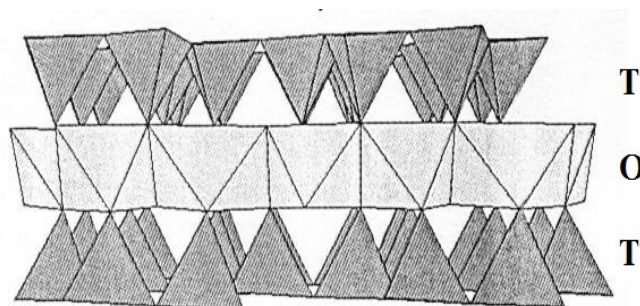
Oktaedrická síť je tvořena oktaedry, které spolu sdílí nejen své vrcholy, ale rovněž polovinu hran. Centrální pozici oktaedrů obvykle zaujímají kationty Al^{3+} , $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, Mg^{2+} , v krajních případech však mohou být neobsazeny. Heterovalenční substituce Si^{4+} za Al^{3+} nebo Fe^{3+} v tetraedrech a Al^{3+} a Fe^{3+} za Fe^{2+} a Mg^{2+} v oktaedrech dodávají negativní náboj

krystalové mřížce. Ten je kompenzován anorganickými kationty Ca^{2+} , Na^+ , K^+ umístěnými v hydratovaných mezivrstevních prostorech. Kationty se nazývají výměnné a množství, které jsou schopny vyměnit, se nazývá iontově výměnná kapacita (CEC). Rozdílná kombinace oktaedrických a tetraedrických sítí určuje typ a minerální skupinu jílových minerálů [6].



Obr. 1 – Znáznornění 1:1 vrstvy [7]

Skupina 1:1 je tvořena spojením jedné sítě oktaedrů se sítí tetraedrů (Obr. 1). Charakteristickým znakem je společná rovina atomů kyslíku. Mezi nejznámější 1:1 vrstevnaté silikáty patří kaolinit, hallyosit nebo dickit. Oktaedrická vrstva vložená mezi dvě tetraedrické je typická pro 2:1 jílový minerál (Obr. 2). Skupinu 2:1 fylosilikátů tvoří např. smektity (montmorillonit), vermikulity nebo mastek [6].



Obr. 2 – Znáznornění 2:1 vrstvy [7]

Mikro a mezoporézní struktura umožňuje jílovým minerálům aplikace v iontově výměnných, adsorpčních a katalytických procesech. Ekologická nezávadnost a nízká pořizovací cena pak řadí tyto materiály na první příčky mezi adsorbenty v technologických aplikacích. Uplatnění nacházejí zejména jako součást zařízení, zachycující nežádoucí látky z vodných roztoků, odpadních vod nebo kontaminovaných půd [8].

Vrstevnaté nanokompozitní materiály mohou být rozděleny do dvou odlišných skupin: (i) interkalované a (ii) exfoliované. V prvním případě je mezivrstevný prostor rozšířen polymerními řetězci. Polymery jsou střídavě přítomny v anorganických vrstvách, je znám počet polymerních vrstev v mezivrstevním prostoru a je zachována periodicit

uspořádání vrstev. Exfoliovaná struktura vzniká, jestliže jsou elektrostatické síly mezi destičkami zcela přerušeny polymerním řetězcem. Plnivo je zcela delaminováno na jednotlivé destičky, rozmístěné daleko od sebe, takže zcela zaniká jejich periodické uspořádání. Interkalované materiály jsou užitečné pro elektroniku a transport náboje, zatímco exfoliované mají vynikající mechanické vlastnosti. Typ struktury výsledného materiálu závisí na výměnné kapacitě jílového minerálu, polaritě reakčního média a chemické povaze mezivrstevních kationtů [1].

Pro technologické aplikace jílových minerálů je žádoucí jejich správná funkčnost. Ta může být podstatně zdokonalena zmenšením velikosti částic. Mezi nejvyužívanější nástroje, sloužící k redukci částic patří mechanické zpracování – mletí. Mechanické působení je rychlá a efektivní metoda zmenšení velikosti částic, avšak její průběh může mít za daných okolností degradační vliv na výsledné vlastnosti materiálu. V průběhu mletí dochází k modifikaci povrchu a narušení krystalové struktury. Dále také dochází ke zvýšení povrchové energie a reaktivitě, vedoucí k nárůstu chemické aktivity [9]. Vhodnou alternativou k mlecím procesům se jeví ultrazvuková metoda. Pomocí ní dochází k delaminaci a zmenšení velikosti vrstevnatých částic bez narušení krystalografické struktury.

2.2.1.1 Vermikulit

Vermikulit je jedním z přirozeně se vyskytujících jílových silikátových minerálů, nejčastěji je vytvářen hydrotermální změnou nerostu slídy biotitu či flogopitu. Strukturou se řadí mezi 2:1 vrstevnaté silikáty (Obr. 2), kde jsou dvě tetraedrické sítě spojeny s centrální oktaedrickou sítí. Za celkový negativní náboj struktury vermikulitu jsou zodpovědné substituce Al^{3+} iontů za Al^{4+} v tetraedrech, a Mg^{2+} a Fe^{2+} za Al^{3+} v oktaedrech. Negativní náboj je kompenzován interkalačními kationty typu Mg^{2+} nebo K^{+} v hydratovaných mezivrstevních oblastech [9].

Za posledních 60 let našel uplatnění zejména jako izolační, potahový a plnicí materiál, jelikož je velice lehký a disponuje vysokou tepelnou odolností. Dále dodává materiálu žáruvzdorné a bariérové vlastnosti. Do polymerních matric je dodáván za účelem zvýšení mechanických a tepelných vlastností. Velký specifický povrch umožňuje interagovat s dalšími molekulami a široký mezivrstevný prostor je schopen adsorbovat velké organické molekuly. Řízeně delaminované vermikulity o zmenšené velikosti a tloušťce mají

vysoké hodnoty CEC, a proto se využívají jako adsorbenty adsorbující organické nečistoty a těžké kovy z vodných roztoků [10].

Sorpční chování těžkých kovů na vermikulit studoval tým Maladrina a kol. [11]. Adsorpce kovových iontů klesala s klesajícím pH roztoku a zvyšující se iontovou silou. Formace stabilních ligandových komplexů v roztoku navíc přispívala k narušení adsorpce. I přes tyto komplikace se vermikulit osvědčil jako výborný adsorbent.

2.2.2 Oxidy kovů

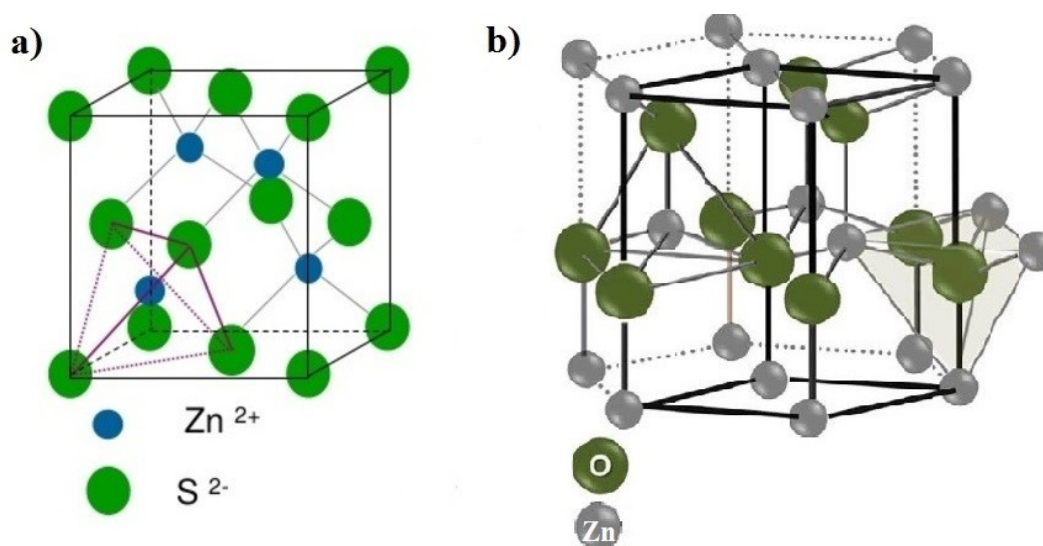
Kovové nanočástice a obzvláště jejich oxidy našly velice rychle svá uplatnění v nanosvětě. Nanočástice oxidu hořečnatého (MgO) nebo oxidu hlinitého (Al_2O_3) jsou velice často využívány v optickém a elektronickém průmyslu, kde vylepšují především mechanické, tepelné a fotokatalytické vlastnosti. V lékařských a textilních aplikacích nacházejí uplatnění pro své znamenité antibakteriální vlastnosti zejména nanočástice stříbra, oxidu titaničitého (TiO_2), oxidu měďnatého (CuO) a oxidu zinečnatého (ZnO). Nanočástice oxidu železa (Fe_2O_3) jsou pro změnu hojně používány jako kontrastní látky pro magnetickou rezonanci a své potenciální uplatnění nalézají také jako vhodné nosiče léčiv. V nanokompozitních materiálech se kovy a jejich oxidy vyskytují ve formě plniva a dodávají tak výslednému materiálu vylepšené, či zcela nové vlastnosti [12].

Nanočástice CuO a TiO_2 na trhu antibakteriálních látek přitahují stále větší pozornost. Důvodem je zejména jejich nižší pořizovací cena ve srovnání s rozsáhle používanými nanočásticemi stříbra. Nanočástice CuO disponují velkým aktivním specifickým povrchem, vytvářejícím neobvyklé krystalové struktury účinné v inhibici širokého spektra bakterií. V hybridních materiálech navíc markantně vylepšují tepelnou a elektrickou vodivost [13]. Nanočástice TiO_2 nacházejí uplatnění zejména v oblasti povrchových úprav, např. jako ochranné vrstvy implantátů. Jejich antibakteriální účinnost je aktivována působením UV zářením. Při interakci TiO_2 s UV zářením dochází k aktivaci fotokatalytického procesu vyvolávajícího chemické reakce. Tyto reakce jsou iniciátorem procesů, vedoucích k inhibici bakterií. Do kosmetických přípravků je dodáván jako ochrana před slunečním zářením a stabilizátor jednotlivých složek krému. CuO a TiO_2 jsou chemicky inertní, mísitelné s makromolekulárními látkami a šetrné vůči životnímu prostředí. Ve srovnání s organickými antibakteriálními látkami jsou odolnější a vyznačují se delší životností [14].

Mezi oxidy kovů je v současnosti pozornost upírána také na nanočástice ZnO. Antibakteriální aktivita, absorpce UV záření, výborné fotokatalytické, optické a antikorozi chování jsou pouze stručným výčtem jeho rozmanitých vlastností. Při zakomponování ZnO do hybridních nanokompozitních materiálů se tak naskýtá možnost širokého spektra potenciálních aplikací [14].

2.2.2.1 Oxid zinečnatý

Oxid zinečnatý (ZnO) se v přírodě vyskytuje jako šesterečný minerál, zvaný zinkit. Krystalizuje ve dvou hlavních modifikacích: kubický sfalerit a hexagonální wurtzit (Obr. 3). Hexagonální struktura je nejstabilnější za běžných podmínek, a proto je také nejčtenější formou. Přestože se jedná o přírodní minerál, ve většině případů je oxid zinečnatý připravován synteticky. Uměle připravená bílá prášková forma je téměř nerozpustná ve vodě [15].



Obr. 3 – Krystalové modifikace ZnO a) kubický sfalerit [16] a b) hexagonální wurtzit [17]

Původně byl vyvinut jako absorbent ultrafialového záření pro dermatologické aplikace. Stal se nedílnou součástí zejména v opalovacích krémech, plet'ových mlécích či mastech. V současné době je považován za nejpoužívanější oxidový minerál. Rychlý nárůst zaznamenal po úspěšné přípravě jeho nanostrukturované formy. Řadí se mezi velice důležité II-IV. polovodiče. S šířkou zakázaného pásu 3,37 eV a vysokou excitační vazebnou energií je široce využíván v elektronice, optice a piezoelektrických aplikacích [18].

V porovnání s TiO₂ nevyžaduje fotoaktivaci. V nízkých koncentracích je inertní vůči lidským buňkám, ale škodlivý pro mikroorganismy. Žádoucí je zejména jako

antibakteriální činidlo s dobrými biokompatibilními vlastnostmi. Fyzikální, chemické a strukturní vlastnosti ZnO se mění v závislosti na tvaru a velikosti částic [19].

Nanočástice ZnO mohou být připraveny suchou, nebo mokrou cestou. V prvním případě jsou využívány především metody chemické depozice par (CVD), pulzní laserové depozice (PLD) nebo fyzikální depozice par (PVD). Mezi mokré cesty přípravy pak patří sol-gel metoda, hydrotermální syntéza, sprejová pyrolýza a emulzní metoda [20].

Co-precipitační metoda vede také k přípravě nanočástic ZnO. Ve studii Alswat a kol. [21] byl touto metodou připraven nanokompozitní materiál tvořený nanočásticemi ZnO na zeolitu. Bylo zpozorováno, že malé nanočástice ZnO rostou nejen na povrchu, ale také uvnitř superklece zeolitu. Vytvořený nanokompozitní materiál navíc disponoval antibakteriální aktivitou vůči gram negativním a gram pozitivním bakteriím. Antibakteriální účinnost se zvyšovala s narůstajícím obsahem nanočástic ZnO ve struktuře a s poklesem jejich velikostí.

Porézní heterostruktury na bázi jílových minerálů jsou poutavé materiály pro průmyslové aplikace, využívající katalytické a adsorpční chování. ZnO má velice dobré katalytické vlastnosti, a proto je jeho kombinace s porézní strukturou velkou výzvou pro další vývoj a výzkum účinnějších a konkurenceschopnějších katalyzátorů. Práce Akkari a kol. [22] se zabývala syntézou nanostruktury na bázi ZnO/jílový minerál. Struktura byla vytvořena nahromaděním nanočástic ZnO na povrchu organicky modifikovaného jílového minerálu. Ten byl připraven zpracováním smektitu a sepiolitu s cetyltrimethylamonium bromidem. Po kalcinaci vykazoval výsledný materiál pórovitou strukturu, která spolu s katalytickými centry nanočástic ZnO fungovala jako účinný fotooxidant organických molekul. V porovnání s čistými nanočásticemi oxidu zinečnatého vykazovala syntetizovaná nanostruktura lepší fotokatalytickou dekompozici methylenové modře.

2.3 Organické látky pro nanokompozitní materiály

Existuje široké spektrum organických látek využívaných pro nanokompozitní materiály. Ve většině případů jsou využívány organické makromolekulární látky – polymery. Polymery zastávají v materiálu funkci matrice a dodávají materiálu především plastičnost a lehkost. Jako organická plniva jsou využívány zejména uhlíkaté materiály a jeho alotropní formy (např.: uhlíkatá vlákna, CNT, grafen). Tyto materiály vylepšují mechanické a vodivostní vlastnosti [23]. V posledních letech je však velký důraz

kladen na antibakteriální hybridní nanokompozitní materiály. Antibakteriální aktivita je nanokompozitním materiálům dodána prostřednictvím organických léčivých molekul. Mezi nejpoužívanější antibakteriální organické látky se řadí chitosan, kvartérní amoniové soli nebo soli chlorhexidinu [24].

2.3.1 Polymery

Nanokompozitní materiály na bázi polymerů se řadí mezi nejvyužívanější. Zakomponování makromolekulární látky do materiálu modernizuje jeho strukturu a funkční vlastnosti. Spolu s vývojem polymerních látek se také rozrostla oblast výzkumu hybridních nanokompozitních materiálů.

Nanokompozitní materiály na bázi termoplastů nebo termosetů vykazují ve většině případů vylepšené vlastnosti. Mezi nejvyužívanější polymery v hybridních systémech se řadí polyester, polyanilin, polyvinyl a polyethylen. V krajních situacích však dochází ke zvýšení viskozity, ztrátě průhlednosti a snížení polymerační kinetiky. Tyto komplikace jsou z velké míry eliminovány dodáním vhodných nanostruktur (např.: vlákna, uhlíkaté trubičky nebo nanočástice keramiky, jílu, oxidu kovů) do polymerní matrice [24]. Další problém úzce spojený s polymerními materiály je nedostatečná disperze plniva. Nanočástice mají díky velkému specifickému povrchu a malému objemu tendence snadno aglomerovat. Proto je nezbytné povrch částic modifikovat vhodným surfaktantem [25]. Navzdory výše zmíněným komplikacím představují polymerní látky stále nejžádanější složku nanokompozitních materiálů.

2.3.2 Chlorhexidin

Chlorhexidin se řadí do skupiny léků, zvaných antiseptická antibakteriální činidla. Disponuje vysokou antibakteriální aktivitou a velice dobře se snáší s aniontovými a kationtovými detergenty. Využívány jsou především jeho soli typu dihydrochlorid, diacetát nebo diglukonát. Na trhu se vyskytuje více než padesát let a stal se nepostradatelným komponentem dezinfekčních, kosmetických a farmaceutických produktů. Nalézt jej lze zejména v krémech, zubních pastách, ústních vodách nebo deodorantech [26].

Chlorhexidin má vysokou schopnost vázat se ke kůži, zubní tkáni a ústní sliznici, a proto se také stal hlavní složkou ústních vod a dalších stomatologických antibakteriálních produktů. Při nízkých koncentracích vykazuje bakteriostatický charakter (brání růstu

mikrobů), zatímco při vyšších koncentracích charakter baktericidní (usmrcující bakterie) [27]. Velkou nevýhodu však představuje jeho přímý kontakt s vodním prostředím. Nepřetržitý tok léčiva do vodního systému zesiluje obavy o znečištění životního prostředí. Přestože není nikde zcela objasněna toxicita této látky, představuje jisté nebezpečí, zejména pro vodní mikroorganismy. Degradace farmaceutických produktů představuje vhodnou metodu eliminující tyto nežádoucí účinky. Vliv fotomineralizace na látky obsahující CH zkoumali Das a kol. [26]. Bylo zjištěno, že produkty, jež podstoupily fotomineralizaci, po uvolnění do okolí nezpůsobují žádnou toxicitu vodnímu prostředí. Proto je možné předpovídat, že fotomineralizace představuje metodu detoxifikace CH.

Přestože je CH velice dobrou antibakteriální látkou uplatňující se v mnoha produktech, avšak jeho toxické chování není zcela objasněno a pro lepší interpretaci je nezbytné provést důkladnější výzkumy.

2.4 Příprava hybridních nanokompozitních materiálů

Samotná příprava nanokompozitního materiálu je stěžejním krokem celého procesu a pouze malá změna jednotlivých parametrů je schopna markantně ovlivnit výsledné vlastnosti materiálu. Hybridní nanokompozitní materiály lze připravit dvěma způsoby. Buď metodou top-down (shora-dolů), nebo opačným postupem bottom-up (zdola-nahoru) [28].

Proces top-down je často označován za fyzikální metodu, kdy cíleným zmenšováním „objemového“ materiálu je utvářena nanostruktura. Postup miniaturizace probíhá v několika krocích do doby, než má výsledný materiál dostatečně malou velikost, aby se stal nositelem nových vlastností. Do skupiny top-down patří hlavně mlecí, leptací a litografické procesy. Bottom-up technika je považována za chemický či syntetický proces. Nanostruktura vzniká pomocí kontrolovaných chemických reakcí a postupná stavba atomů či molekul je důsledkem samouspořádacího procesu. Sol-gel metoda se řadí mezi nejpoužívanější bottom-up techniky, obzvláště díky své vysoké přizpůsobivosti a mírným reakčním podmínkám. Metody zdola nahoru patří mezi levnější a přesnější techniky, avšak stále více používanější jsou metody shora-dolů [28].

Nanokompozitní materiály využívají pro přípravu různá zařízení, pracující na principu stříhové či smykové deformace, např. extrudéry, mlýny, sonotrody. Metod přípravy hybridních nanokompozitních materiálů je nepřehledné množství. V současné době jsou však

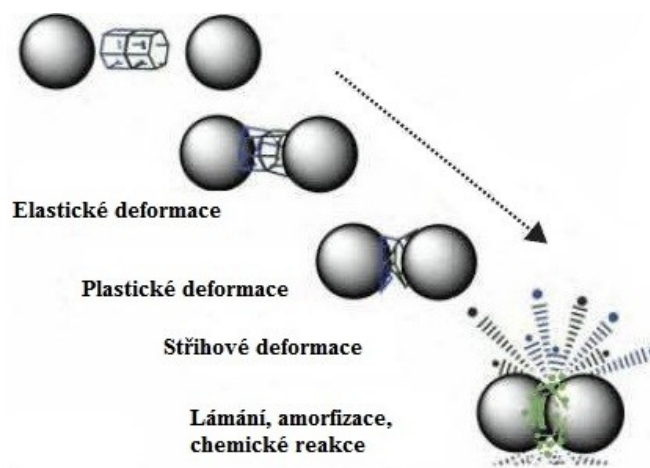
nejčastěji připravovány metodami *in situ*, sol-gel, ultrazvukovým působením nebo mechanochemickým zpracováním [1].

Samotná příprava hybridních nanokompozitních materiálů je velice obtížná a náročná. Komplikace způsobuje především velký rozdíl pracovních teplot jednotlivých organických a anorganických složek. Organické materiály jsou nejčastěji připravovány za pokojových teplot a až do 200°C. Naproti tomu anorganické materiály vyžadují teploty okolo 1000 a více stupňů. Proto vhodná volba metody a nastavení dalších kritérií hraje klíčovou roli pro konečnou povahu materiálu [5].

2.4.1 Mechanochemická metoda

Mechanochemické metody jsou založeny na procesu rozpadu původních látek, jejich reakci a vzniku látek nových. Existuje několik metod využívajících tento proces, avšak ne všechny jsou schopny eliminovat nežádoucí účinky. Mezi nejpoužívanější metody se řadí například samopropagující vysokoteplotní syntéza, rázové vlny nebo mechanická aktivace směsí v mlecích aparaturách. Poslední metoda je v současnosti široce využívána zejména kvůli své jednoduchosti a dostupnosti. Lze ji využít k vytvoření částic o dané velikosti a tvaru, ke zvýšení specifického povrchu částic nebo k aktivaci poruch v pevných látkách, jež jsou činitelem chemických reakcí a procesů [29].

Z chemického hlediska zahrnuje mechanická úprava vysokoenergetickými impulzy tři kroky: mechanochemickou aktivaci, mechanické slévání a reaktivní mletí pevných látek. Proces mechanické úpravy je velice jednoduchý a nenáročný. Počátečním krokem procesu je rozmělnění práškového materiálu. Materiál je vpraven do mlecích nádob, opatřených mlecími tělesy. Mletý materiál je pravidelně vházen do zón kulové kolize, kde dochází k vícenásobnému roztržení částic, zmenšení jejich velikosti a současně ke zvětšení specifického povrchu a povrchové energie. Mechanická aktivace směsí zahrnuje disperzi pevných látek a jejich plastickou deformaci (Obr. 4). Přenos energie k práškovým částicím je zprostředkován smykem či nárazem kuliček. Blízký kontakt mletého materiálu způsobuje výrazné zvýšení difúze a chemické reaktivity látek. Mletí tak lze považovat za mechanochemickou aktivaci, jelikož dochází ke změně struktury materiálu, chemickému složení a chemické reaktivitě [29].



Obr. 4 – Deformační procesy probíhající mezi dvěma mlecími tělesy [30]

Existuje několik typů mlecích zařízení, nejznámější jsou vibrační, planetární a diskové mlýny. Mají určité společné rysy, ale liší se od sebe kapacitou, výkonností chladicích systémů nebo odlišnými systémy pro měření teplot a tlaků. Mletí ve speciálních mlýnech je několikanásobně efektivnější než v běžných zařízeních. Kupříkladu zmenšení wolfram karbidových částic na částice o velikosti 3 μm trvá v běžném zařízení až 70 hodin, ve speciálních mlýnech je tato doba zkrácena na pouhé 3 minuty. Výsledný materiál je ovlivněn mnoha parametry, jimiž jsou např.: typ mlýnu, velikost a materiál mlecích těles, rychlost mletí (rpm), délka mletí, mlecí atmosféra nebo činidlo řídící proces. Všechny tyto proměnné nejsou zcela nezávislé, proto je potřeba v některých případech optimalizovat mlecí parametry experimentálně. Nežádoucím aspektem mechanochemického mletí je ztráta krystalinity anorganických krystalických materiálů [31].

Soudobé výzkumné týmy zjistily, že mechanochemické zpracování má vliv na adsorpční a interkalační kapacitu materiálu. Makó a kol. [32] využili mechanochemickou metodu jako nástroj pro zvýšení interkalační kapacity slabě reaktivního kaolinitu v přítomnosti močoviny. Prokázalo se, že v přítomnosti pevného vzorku močoviny dochází k úplné interkalaci kaolinitu. Možným vysvětlením úplné interkalace bylo odstranění vysoce defektní kaolinitové vrstvy zabraňující interkalaci dalším částicím. Mechanochemické zpracování navyšuje stupeň interkalace a současně snižuje množství krystalické fáze slabě reaktivního kaolinitu.

V obdobné práci zkoumali Hongo a kol. [9] působení mechanochemické metody na vermikulitové částice a jejich adsorpční vlastnosti na olovo. Analýza potvrdila, že v důsledku mletí došlo k redukci velikosti částic a zvýšení neuspořádanosti krystalů ve vzorku. Dále byl zaznamenán zvýšený počet povrchových hydroxylových skupin, generovaných v

důsledku rozbití vazeb v tetraedrech a oktaedrech. Přesto mechanochemické zpracování vedlo k dramatickému zvýšení adsorpčních kapacit. Zdokonalení bylo přičítáno přírůstku hydroxylových skupin na povrchu, jež jsou volné a k dispozici pro adsorpci.

Při dlouhodobém působení mechanického mletí dochází k vymizení bazální difrakce a kompletní destrukce struktury. Podobný efekt mechanického mletí byl zaznamenán u vzorku MMT a modifikovaného MMT imidazolem. Bylo prokázáno, že mlecí proces způsobil narušení vrstev a usnadnil dehydroxylaci MMT. Navíc u organomontmorillonitu došlo ke zhroucení dříve než u nasyceného MMT [33].

Porézní povrch je žádoucí, zejména u materiálů využívaných ve fotokatalytických a adsorpčních procesech. Příprava porézních struktur je velice obtížná, a proto je její průběh usnadněn použitím šablony. Mechanochemická metoda se osvědčila jako metoda vhodná pro přípravu porézních struktur bez přítomnosti šablony. Vědeckému týmu Tadjarodi a kol. [34] se takto podařilo připravit porézní nanostrukturu ZnO. Vzniklá struktura měla dřevitý charakter, tvořený nanočásticemi o velikosti 80 nm.

Polymer může být jako prekurzor pro přípravu nanokompozitního materiálu mlecí technikou přítomen ve formě samostatné polymerní látky, nebo monomeru. Jestliže je přítomen ve formě monomeru, je nutná jeho polymerizace. Jako oxidační činidlo iniciující tento proces může sloužit jílový minerál MMT. Ve studii Bekri-Abbes a kol. [35] byl syntetizován pomocí mechanochemického procesu nanokompozitní materiál na bázi polyanilin (PANI) a MMT. Kationty železa Fe^{3+} , lokalizované v MMT oktaedrických sítích a atmosférický kyslík se společně chovaly jako oxidační činidlo, zahajující polymerizaci kationtů anilinu. MMT tedy sloužil nejen jako výztuž nanokompozitního materiálu, ale také jako iniciátor procesu polymerizace. Přínosem této studie je poznatek, že pro zahájení polymerizace není potřeba použití dalších činidel, znečišťujících výsledný produkt.

2.4.2 Ultrazvuková metoda

Ultrazvuk je znám na Zemi již několik stovek let a stal se nedílnou součástí života. Zejména pro některé živočichy (např. delfín, netopýr) je toto mechanické vlnění životně důležité. Kupříkladu netopýři jej využívají pro správnou orientaci v prostoru, pro delfíny či psy představuje formu dorozumívání. Lidské ucho je schopno vnímat vlny o frekvencích v rozmezí 10 Hz - 10 kHz [28]. Frekvenční hranice ultrazvukových vln je však nad sluchovým prahem lidského orgánu, a proto jej lidé nedokáží detekovat.

Ultrazvuk je mechanické vlnění o frekvenci vyšší než 20 kHz a na základě frekvenčního rozdělení jej lze definovat jako:

- a) *výkonný ultrazvuk (20 kHz - 100 kHz)* – má dostatečnou energii pro tvorbu kavit, proto je tato frekvenční oblast využívána zejména v chemii;
- b) *diagnostický ultrazvuk (1–10 MHz)* - nedestruktivní metody diagnostiky materiálů nebo člověka.

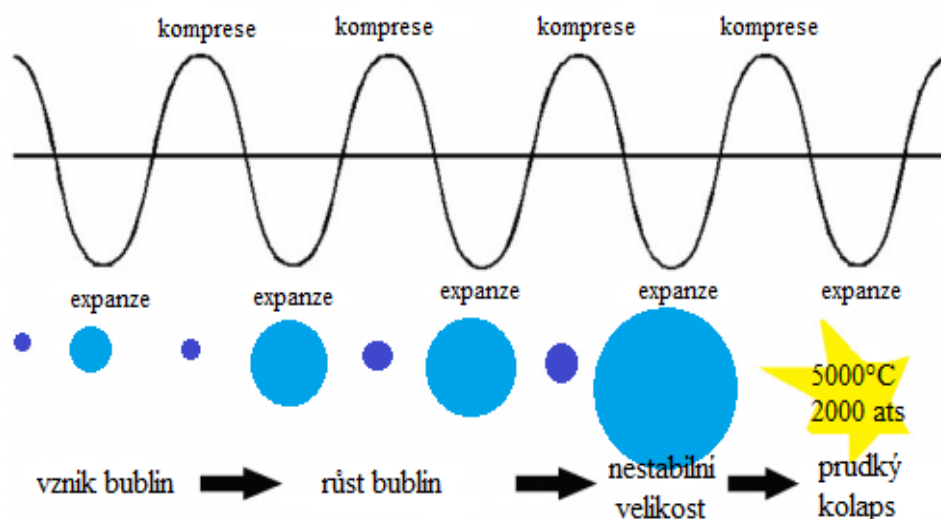
Přestože ultrazvuk není slyšen, naučili jsme se jej využívat v mnoha odvětvích. V oblasti chemie je ultrazvuk znám a využíván již několik let. Uplatnění nalézá zejména jako nástroj k vybuzení chemických procesů a reakcí. Hlavní pozitiva této metody jsou: vysoká frekvenční zesílení, selektivita a bezpečná forma ozáření. Spolu s dalšími stimulujícími metodami (např. mikrovlnné záření, fotochemie, elektrochemie) patří do skupiny metod, jež jsou šetrné k životnímu prostředí [28].



Obr. 5 - Ultrazvuková tyč [36]

Princip ultrazvuku je založen především na procesu kavitace, jež je hlavním činitelem všech sonochemických procesů. Tento proces vzniká v důsledku vložení ultrazvukové tyče (Obr. 5) do kapaliny. Tyč generuje ultrazvukové vlny o předem dané frekvenci. Výsledkem je vznik oscilujících oblastí s podtlakem a přetlakem [28]. Pokud je podtlak větší než pevnost kapaliny v tahu, vytváří se akustické kavitační bubliny, jež s každým cyklem expandují. Po dosažení určité velikosti (desítek mikrometrů), se bubliny stávají nestabilní a kolabují (Obr. 6). Zhroucení kavity způsobuje aktivaci chemických reakcí jak plynné fáze uvnitř bubliny, tak také fáze kapalně v jejím okolí. Po kolapsu vznikají na

těchto místech energetická centra (*angl.* hot spot), kde dochází k intenzivnímu lokálnímu zvýšení teploty a tlaku. Teplota a tlak se pohybují v rozmezí tisíců Kelvinů a stovek atmosfér. Celý vysokoenergetický kvazi-adiabatický proces trvá pouze několik mikrosekund, ale má zásadní vliv na výsledné fyzikální vlastnosti roztoku [37].



Obr. 6 - Proces kolapsu bublin [38]

Kavitační jev se vyskytuje v širokém rozsahu ultrazvukových frekvencí, od desítek Hz po desítky MHz. Většina vysoce intenzivních ultrazvukových tyčí pracuje ve frekvenčním rozmezí 20-40 kHz. Ultrazvukové vany pak při frekvencích blízkých 40kHz. Při nižších frekvencích je dominantnější povrchové poškození a proces emulsifikace. Naproti tomu kavitační zahřátí kolabujících bublin nastává v celém frekvenčním rozsahu. Rozdílné frekvenční hodnoty způsobují odlišnou propagaci ultrazvukových vln a s tím úzce spojenou tvorbu rozdílných struktur [37].

Účinnost fyzikálně – chemických reakcí probíhajících při ultrazvukové syntéze závisí nejen na vlastnostech kapaliny (např. tlak páry, viskozita, teplota, intenzita ultrazvuku), ale také na povaze rozpuštěného plynu. Bubliny jednoatomových plynů, např. argon Ar, mají nižší tepelnou kapacitu a zprostředkovávají mnohem větší teplotu při kompresi než bubliny dvou a více atomových plynů, např. dusíku N₂ či kyslíku O₂. Kavitační jev je velice citlivý na typ použitého rozpouštědla, jelikož viskozita a povrchové pnutí mohou zcela změnit výsledné vlastnosti. Narůstající kohézní síla kapaliny zvyšuje náročnost na uskutečnění kavitace. Proto je pečlivý výběr vhodného rozpouštědla stěžejním krokem celé metody. Teplota roztoku představuje také velice důležitý parametr, dokáže totiž urychlit difúzi, vylepšit kavitační proces a narušit interakci mezi rozpouštěnou látkou a

rozpouštědlem (interakce zahrnující Van der Waalsovy síly, vodíkové vazby a dipólové interakce). Příliš vysoké teploty však vedou k procesu plynné kavitace, kdy akustické bubliny reagují s bublinami páry, srůstají a snižují tak efektivitu ultrazvuku [10].

V posledních desetiletích je ultrazvuková metoda hojně využívána jako efektivní a praktická pro přípravu široké škály materiálů s řízenými vlastnostmi. Ultrazvukové zpracování je považováno za metodu, při které buď nedochází, nebo dochází pouze k minimálnímu narušení krystalové struktury [18]. Hlavní výhoda spočívá v její univerzálnosti, pomocí níž lze připravit nanostrukturované kovy, oxidy, chalkogenidy, karbidy, polymery, biomateriály či nanokompozitní materiály [28].

Využití ultrazvuku představuje rychlou, jednoduchou a účinnou metodu přípravy také nanostrukturovaných částic ZnO neobvyklých tvarů. Yu a kol. [39] vytvořili pomocí ultrazvukového působení květinové nanostruktury ZnO. Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu poukázaly na skutečnost, že květinové ZnO nanostruktury utvářejí 1D hexagonální nanodrátky o průměru 300 nm a délce 3 μm . Jedinečný tvar nanostruktury navíc dodal vzorku unikátní fotokatalytickou aktivitu.

Ultrazvuková syntéza nanočástic může probíhat ve dvou typech zařízení. V ultrazvukové vaně, nebo pomocí ultrazvukové trubice. Obě metody fungují na stejném principu, ale za rozdílných pracovních podmínek. Vliv typu ultrazvukového zařízení na mikrostrukturu a morfologii nanočástic ZnO studoval Sharifalhoseini a spol. [18]. Obě techniky připravily vzorky s vysokou krystalickou formou, ale rozdílných struktur. UZ vana vytvořila květinové struktury s ostrými částmi na koncích každé větve. Naopak použití UZ trubice přispělo ke tvorbě částic, které krystalizovaly ve tvaru hvězdy. Rozdílné frekvenční hodnoty použité u jednotlivých metod, způsobují odlišnou propagaci ultrazvukových vln a s tím také spojenou tvorbu rozdílných struktur.

Ultrazvuk nachází uplatnění také pro přípravu mikronových a submikronových částic vrstevnatých jílových minerálů. Působením UZ je jílový minerál vystaven teplotnímu šoku, dochází ke generaci páry v mezivrstvi a následné exfoliaci jednotlivých vrstev. Nejčastěji jsou pro tuto metodu využívány 2:1 fylsilikáty, které v exfoliovaném stavu vykazují nízkou objemovou hmotnost, tepelnou vodivost a poměrně vysoký bod tání. Velikost syntetizovaných částic úzce souvisí s délkou doby zpracování. Dle Nguyen a kol. [40] byly nejmenší částice získány nejdelším působením ultrazvuku (<12 h) a proces nejefektivněji probíhal v peroxidu vodíku, který přispěl ke zvýšení chemických účinků.

Proces zmenšování velikosti částic významně ovlivňuje teplotní chování vrstevnatých silikátů. Tuto skutečnosti potvrdil ve své studii tým Pérez-Rodrigués a kol. [41]. Jelikož všechny původní endotermické dehydroxylační efekty u testovaných minerálů (kaolinit, mastek, muskovit a pyrofilit) byly posunuty k nižším teplotám.

Změna pracovních podmínek může mít také významný vliv na průběh přípravy a výsledný charakter materiálu. Studium Ali a kol. [10] poukázalo na efektivní využití Rosetova typu reaktoru pro přípravu mikronových částic Na-vermikulitu. Nejpatrnější účinek na velikost částic zaznamenala změna teploty, s narůstající teplotou (90 °C) se rapidně zmenšovala velikost částic a časové rozpětí (*z angl.* span of time). Efektivní proces redukce částic je důsledkem vylepšené exfoliace a delaminace částic, které způsobila nejen kavitace, ale také přirozeně se vypařující bubliny vody za vyšších teplot. Delší působení UZ za daných podmínek navíc vedlo k opětovnému zvětšování velikosti částic v důsledku agregace a následné reaglomerace.

Sonochemická metoda je považována za vhodný a efektivní nástroj pro interkalaci. Ve studii Ondery a kol. [42] byl pomocí této metody interkalován polyethylenglykol (PEG) do struktury MMT. Působením UZ došlo nejen k efektivnímu nainterkalování PEG do struktury, ale také ke zmenšení MMT částic bez porušení jejich krystalické struktury.

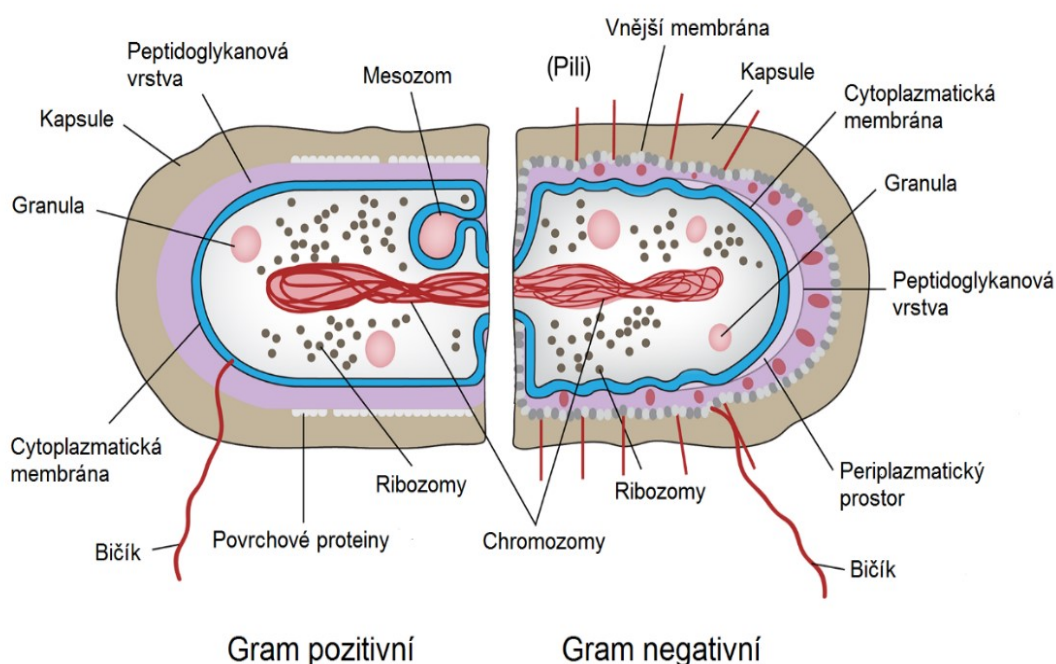
2.5 Vlastnosti hybridních nanokompozitních materiálů

Vlastnosti hybridních nanokompozitních materiálů se liší v závislosti na typu jednotlivých složek a metodách přípravy. Proto neexistuje standartní popis vlastností nanokompozitních materiálů, ale lze vycházet z jednotlivých vlastností přítomných složek.

Jak již bylo výše zmíněno, například zakomponování polymerů do materiálu vede k markantnímu snížení hmotnosti, vylepšení pružnosti a transparentnosti materiálu. Molekuly organických barviv naopak vylepšují optické vlastnosti a uhlíkaté nanotrubičky dodávají materiálu vynikající elektrické vlastnosti. Mechanická pevnost a tepelná odolnost je materiálu dodána prostřednictvím jílových minerálů nebo keramických částic. Biokompatibilní a antibakteriální charakter je získáván především z organických molekul a částic kovů nebo jejich oxidů [3].

2.5.1 Antibakteriální vlastnosti

Bakterie patří mezi mikroskopické jednobuněčné organismy vyskytující se nejen v různém prostředí, ale také při extrémních podmínkách (za nízkých či vysokých teplot). Nepřeberné množství bakterií lze nalézt v půdě, oceánu nebo v lidském těle. Pro lidský organismus představují mnohdy infekční hrozbu, avšak v ojedinělých případech mají pozitivní dopad na lidské zdraví. Kupříkladu výskyt probiotických bakterií je nevyhnutelný pro udržení zdravé rovnováhy trávicího traktu [43].



Obr. 7 - Schéma gram pozitivní a gram negativní bakterie [43]

Antibakteriální vlastnosti látek jsou hodnoceny na základě antibakteriální aktivity vůči gram pozitivním a gram negativním bakteriím. Jedná se o dva základní typy, které se vzájemně liší v závislosti na odlišné citlivosti jejich buněčné stěny na Gramovo barvivo. Rozdílná citlivost je způsobena lišící se strukturou buněčné stěny (Obr. 7). Buněčná stěna gram pozitivní bakterie je silná a je z velké části tvořena peptidoglykanem. Oproti tomu stěna gram negativní bakterie je tenčí, ale skládá se z více vrstev. Vícevrstevné uspořádání vytváří buňku chemicky odolnější a znesnadňuje tak průnik vnějším organismům. Proto jsou také bakterie tohoto typu považovány za rezistentnější. Gram negativní bakterie si na rozdíl od gram pozitivních bakterií nezanechávají aplikované barvivo v buněčné stěně [43].

Vývoj vhodných antibakteriálních materiálů, které mohou být využívány v budoucnosti pro zdravotní účely, stále patří mezi nejaktuálnější témata lékařských

výzkumů. Obzvláště zajímavé jsou látky, které se chovají jako nosiče antibakteriálních nebo antimykotických činidel pro lokální léčbu a současně zabraňují nežádoucí léčbě celého organismu [44].

Pro praktické aplikace je žádoucí trvalá antibakteriální aktivita s pravidelným uvolňováním léčiva. Antibakteriální činidla mohou být na základě svého chemického složení rozdělena do dvou kategorií: organická a anorganická. Organické antibakteriální materiály jsou často méně stabilní, zejména za vysokých teplot a tlaků mají tendenci se odpařovat nebo rozkládat [45]. Proto zaznamenávají na trhu stále více pozornosti anorganická antibakteriální činidla, která disponují prodlouženou dobou působení, chemickou stabilitou a tepelnou odolností. V současnosti jsou využívány zejména kovové ionty a oxidy stříbra Ag^+ , zinku Zn^{2+} nebo mědi Cu^{2+} , které účinně inhibují zrod a růst škodlivých mikrobus [46].

Antibakteriální účinnost nanočástic oxidu zinečnatého závisí především na specifickém povrchu částic a jejich koncentraci. S narůstající koncentrací a velikostí specifického povrchu se zvyšuje antibakteriální aktivita [47]. Tuto skutečnost potvrdil vědecký tým Liu a kol. [48], kteří současně zkoumali také antimikrobiální mechanismus ZnO na bakterii *E. coli*. K inhibici bakterie došlo v důsledku destrukce lipidů a bílkovin nacházejících se na buněčné membráně doprovázející únikem intracelulárního obsahu bakterie s následným zánikem buňky. Také Nair a kol. [49] zkoumali v obdobné práci antibakteriální účinnost ZnO v závislosti na měnící se velikosti částic. Výsledky potvrdily tvrzení, že zmenšující se velikost částic vede ke zvýšení antibakteriální aktivity vůči bakteriálním kmenům *E. coli* a *S. Aureus*.

Malá změna objemového množství antibakteriální látky může markantně ovlivnit antibakteriální aktivitu materiálu. Tuto skutečnost potvrdila studie Sevinca a Hanleyho [50]. Práce se zaměřovala na zakomponování nanočástic ZnO do dentálních kompozitů. Kompozitní materiál s 10 % zastoupením nanočástic ZnO vykazoval až 80 % snížení bakteriálního růstu biofilmu v porovnání s nemodifikovaným vzorkem. Přestože 20% bakteriální populace přežilo a mohlo znovu vytvořit vrstvu biofilmu, modifikovaný kompozitní materiál stále udržoval dokonce i po třetím generačním růstu biofilmu alespoň některé inhibiční činnosti.

Běžně používanými nosiči antibakteriálních látek jsou jílové minerály, silika-gely nebo fosfáty. Vrstevnaté silikáty se staly součástí biologických systémů obzvláště díky netečnosti, netoxickému charakteru a schopnosti pojmout do svého mezivrství velké

molekuly cizí látky. Mezi nositele léčiv patří kaolinit, smektity (montmorillonit, saponit), mastek nebo vermikulit. Pro tyto anorganické nosiče využívané v klinické praxi je stěžejní vyhodnotit jejich interakce s živým organismem. Do struktur jsou začleňovány nejčastěji různé druhy biofunkčních molekul a molekul léčiva s kationtovým nebo aniontovým nábojem. Hybridizace léčiva s jílovým minerálem s sebou přináší užitečné vlastnosti jako je např. vylepšená rozpustnost ve vodě, kontrolované a prodloužené uvolňování léčiva, jeho ochrana a cílený transport na určité místo [51].

V současnosti jsou antibakteriální nanokompozitní materiály na bázi jílových minerálů běžnou složkou produktů farmaceutického průmyslu. Nalézt je lze jako přísady pro antacida v perorální léčbě, gastrointestinální ochraně nebo v lokálních anestetikách. Vrstevnaté hybridní nanokompozitní materiály jsou připravovány měkkou chemickou cestou. Nejpoužívanější je proces interkalace, který popisuje reverzibilní vložení cizích molekul do 2D hostitelské sloučeniny [51].

Je známo, že jílové minerály nevykazují antibakteriální aktivitu, ale jsou schopny adsorbovat a zabít bakterie, jakmile je jejich struktura interkalována antibakteriální látkou. In vitro uvolňovací vlastnosti nainterkalovaného chlorhexidinu v MMT zkoumali Meng a kol. [52]. Po dobu 24 hod. došlo k prudkému uvolnění léčiva s následným pravidelným uvolňováním po dobu dalších 72 hod. Antibakteriální aktivita byla testována metodou inhibiční zóny a byla potvrzena silná antibakteriální účinnost vzorku vůči gram pozitivním i negativním bakteriím. Obdobný popis uvolnění chlorhexidinu ze struktury MMT popsal také Saha a kol. [27].

Meng a kol. [53] ve své další práci zkoumali změnu vlastností nanokompozitního materiálu MMT/CH zakomponovaného v polymeru polydimethyloxanu. CH zde sloužil nejen jako antibakteriální látka, ale také vylepšoval vzájemné interakce mezi polymerní maticí a jílovým minerálem. Organomontmorillonit dodal materiálu antibakteriální charakter a zvýšil jeho tepelnou odolnost. Navíc vzorky s velice malým množstvím (0,5 % obj.) organomontmorillonitu v polymerní matici vykazovaly excelentní mechanické vlastnosti. Přítomnost CH v nanokompozitním filmu napomohla k vynikající inhibici bakterií *E.coli* a *S.Aureus*.

Kombinací více antibakteriálních látek v materiálu, lze docílit vylepšených antibakteriálních vlastností. Tým Wu a kol. [45] připravili organicky modifikovaný nanokompozitní materiál tvořený komplexem CH s ionty mědi Cu^{2+} nainterkalovaným do MMT struktury. V důsledku přítomnosti dvou silných antibakteriálních látek byla

zaznamenána zvýšená antibakteriální účinnost. Inhibice bakterií byla způsobena změnou hydrofilního povrchu smektitu na hydrofobní v důsledku interkalace komplexu. Hydrofobní skupiny interagovaly s lipofilními složkami bakteriální buňky a způsobili její zánik.

Antibakteriální aktivitu vykazuje CH také ve struktuře vermikulitu. Nanokompozitní materiál na bázi VER/CH připravený pomocí iontové výměnné reakce vykazoval velice dobré výsledky antibakteriálních testů. Účinnost vůči bakterii *S.aureus* potvrdily vzorky již s nejnižší koncentrací CH, navíc byla aktivita prokázána i po delších expozicích. Výsledky poukázaly také na skutečnost, že nejvyšší použitá koncentrace CH nevedla k úplné interkalaci a destrukci krystalové struktury vermikulitu [44].

V současnosti lze nalézt celou řadu látek aktivních vůči bakteriím a jejich počet stále narůstá. Stěžejním tématem však není pouze nalézt látku novou s lepšími vlastnostmi, ale současně správně porozumět a interpretovat mechanismus působení na bakteriální buňky.

2.5.1.1 Mechanismus působení

Pro lepší uplatnění látek jako antibakteriální činidla je nezbytné porozumět mechanismu jejich působení na bakteriální buňky. V současnosti existuje mnoho studií popisujících mechanismus působení ZnO na bakterie, avšak žádná z těchto studií neposkytuje dostatečné množství informací, jež by vedly ke standartnímu popsání celého procesu.

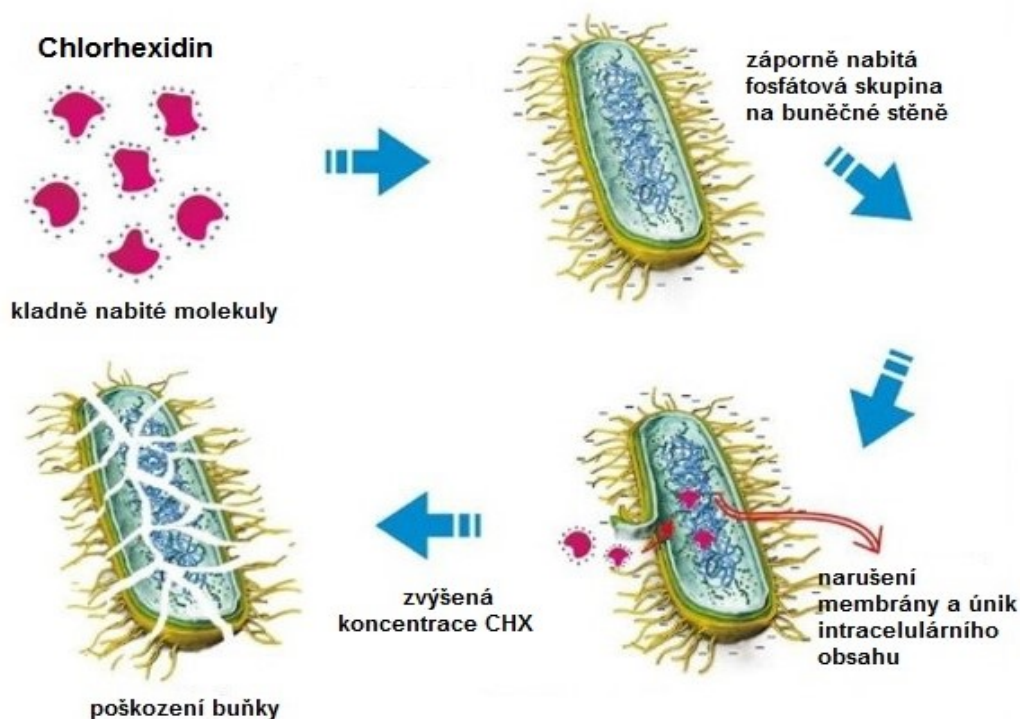
V jedné ze studií je antibakteriální aktivita ZnO popsána jako důsledek uvolnění iontů Zn^{2+} z komplexu doprovázeného difúzí do cytoplazmatické membrány a periplazmatické oblasti. Proces vede k narušení membrány, buněčných funkcí a následné dezorganizaci buňky [54].

Jiná studie naproti tomu popisuje baktericidní účinnost suspenze ZnO, prostřednictvím uvolněných kyslíkových radikálů. Působením UV či viditelného světla na suspenzi dochází k aktivaci defektů vyskytujících se v nanočásticích ZnO, jež následně vytváří pár elektron-díra. Díry způsobí rozdělení molekul vody v suspenzi na OH^- a H^+ ionty. Rozpuštěné molekuly kyslíku se transformují na superoxidový radikál ($O_2^{\bullet-}$), který následně reaguje s kationtem H^+ za vzniku radikálu HO_2^{\bullet} . Tyto radikály po následné kolizi s elektrony produkují anionty peroxidu vodíku (HO_2^-), jež poté reagují s ionty vodíku za vzniku stabilní molekuly peroxidu vodíku (H_2O_2). Molekula peroxidu vodíku je schopna proniknout buněčnou membránou a zahubit bakterie. Hydroxylové a superoxidové radikály nejsou

dostatečně stabilní, aby pronikly do membrány, a tak zůstávají pouze v přímém kontaktu s vnějším povrchem bakterie. Skupina předpokládá, že buněčná smrt nastává v důsledku rozkladu buněčné stěny a buněčné membrány. Poškození buněčné membrány vede k úniku minerálních látek, bílkovin a genetického materiálu, což způsobí smrt buňky [54].

Mechanismus působení chlorhexidinu na bakterie tkví v modifikaci propustnosti cytoplasmatické membrány. K uvolnění buněčných složek dochází při velmi nízkých koncentracích, zatímco při vysokých koncentracích je v důsledku koagulace cytoplazmy baktericidní účinek velice rychlý [56].

Mechanismus působení CH popsal Balagopal a kol. [58] následovně (Obr. 8). Bakteriální buněčná stěna, obsahující sírany a fosforečnany je záporně nabitá. Naproti tomu CH je kladně nabitá molekula, která je přitahována v důsledku elektrostatických sil k záporně nabitě buněčné stěně disponující specifickou a silnou adsorpcí látek obsahující fosfáty. CH naruší celistvost membrány a je dále přitahován fosfolipidy vnitřní membrány. Zvýšení koncentrace chlorhexidinu vede k poškození membrány a úniku nízkomolekulárních látek (např. K^+ iontů). V důsledku poškození dochází k chemické precipitaci a koagulaci cytoplazmy.



Obr. 8 - Mechanismus působení chlorhexidinu [57]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část diplomové práce probíhala v laboratořích Centra nanotechnologií (VŠB-Technická univerzita Ostrava). Antibakteriální testy byly prováděny v laboratořích AGEL, Ostrava-Vítkovice.

3.1 Vstupní materiál

Jako vstupní jílový minerál byl použit Mg-vermikulit původem z Brazílie (inertní označení CNT: 407/08) s frakcí pod 40 μm . Pro přípravu oxidu zinečnatého byly použity chemikálie od společnosti Lach-Ner: chlorid sodný (NaCl , 58.44 g.mol^{-1}), chlorid zinečnatý (ZnCl_2 , 136.29 g.mol^{-1}) a uhličitan sodný (Na_2CO_3 , 105.99 g.mol^{-1}). Organickou antibakteriální látkou v našem experimentu byl chlorhexidin dihydrochlorid (CH , 578.37 g.mol^{-1}) firmy Sigma-Aldrich.

3.2 Metody přípravy

3.2.1 Mechanická příprava vermikulitu

Pro přípravu nanokompozitního materiálu bylo nezbytné v první části experimentu připravit vermikulit (V) s frakcí pod 40 μm . Vermikulit byl mlet v achátovém velkoobjemovém kulovém mlýně (Fritsch-Pulverisette) za účelem zmenšení velikosti částic. Mletí probíhalo po dobu 15 minut při 300 otáčkách za minutu. Pro důsledný proces mletí bylo celkem použito 15 ks mlecích achátových těles. Pomletý V byl následně síťován pro získání požadované velikostní frakce. Síťování probíhalo na elektrické síťovačce při amplitudě 3.5 (síto <40 μm).

Jílový minerál s velikostí částic požadovaných rozměrů byl dále použit jako vstupní materiál pro přípravu hybridních nanokompozitních materiálů.

3.2.2 Mechanochemická příprava anorganického nanokompozitního materiálu

Vermikulit (V) byl spolu s NaCl , ZnCl_2 a Na_2CO_3 vpraven do achátového kulového mlýna, kde se podrobil společně s 15-ti achátovými mlecími tělesy mechanochemické reakci. Chemikálie byly naváženy v následujícím množství: 20 g vermikulitu, 10 g NaCl , 10

g ZnCl_2 , 10 g Na_2CO_3 . Směs byla mleta po dobu 15 min při 300 otáčkách. Připravený materiál byl promýván destilovanou vodou a odstřeďován v centrifuze (Centrifuge 5702 značky Eppendorf) do odstranění chloridů. Přítomnost chloridů byla kontrolována pomocí chloridových papírků (Quantofix). Vzniklý nanokompozitní materiál byl poté sušen v sušárně při 75 °C po dobu 24 hod. Po vysušení byl materiál homogenizován v achátové misce a kalcinován při teplotě 350 °C po dobu 1,5 hod. Výsledný materiál byl použit jako matrice pro přípravu hybridního nanokompozitního materiálu. Takto připravený materiál je značen M_ZV350.

3.2.3 Ultrazvuková příprava anorganického nanokompozitního materiálu

V první části přípravy nanokompozitního materiálu sonochemickou metodou byl připraven 1M roztok NaCl. Potřebné množství NaCl bylo rozpuštěno ve 100ml destilované vody a zahříváno na elektrickém ohříváči na teplotu 80 °C. Do roztoku bylo postupně zamícháno 5 g vermikulitu, 2.5 g ZnCl_2 a 2.5 g Na_2CO_3 . Po rozpuštění všech látek byla do suspenze vložena titanová sonotroda (UP100H značky Hielscher) a celá směs byla podrobena ultrazvukovému působení.

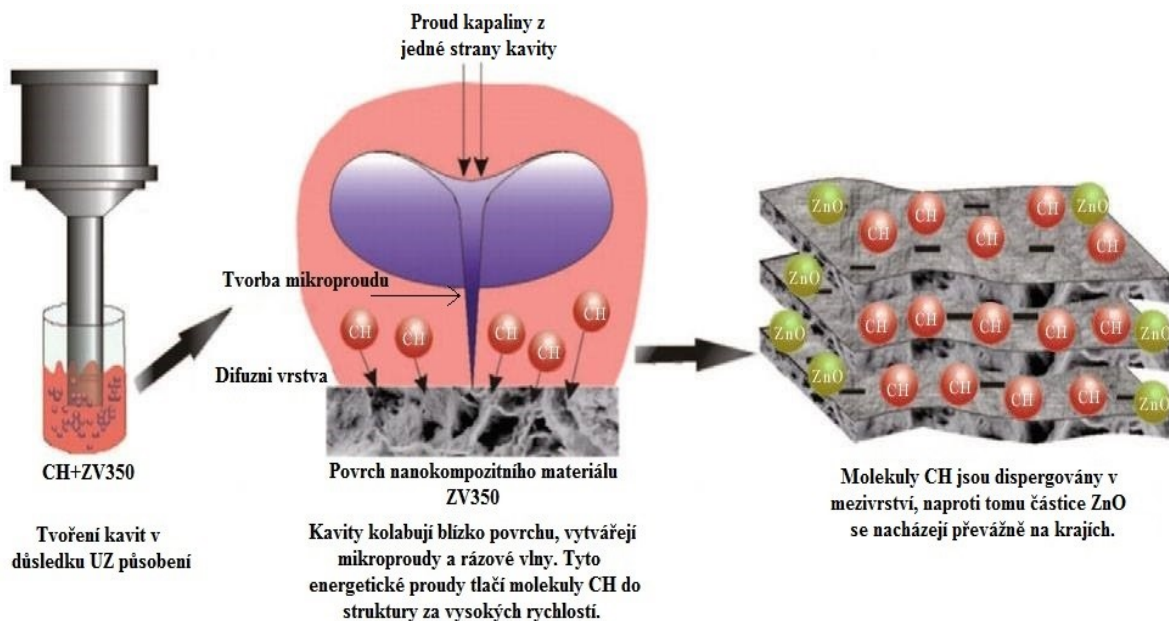
Ultrazvuk působil po dobu 15 min při celém cyklu a 50 % amplitudě. Následně byl vzorek promýván destilovanou vodou a odstřeďován v centrifuze do vymizení chloridů. Pevný podíl nanokompozitního materiálu byl vysušen a homogenizován. Homogenizovaný vzorek byl podroben kalcinaci při 350 °C po dobu 1.5 hod. Ultrazvukem připravená anorganická část je označena: 1U_ZV350.

3.2.4 Mechanická interkalace organické látky

Proces interkalace CH probíhal v poměru 1:2 (nanokompozitní materiál/plnivo). V Erlenmayerově baňce byl smíchán 1 g jílového minerálu s 50 ml destilované vody. V samostatné kádince byly rozpuštěny 2 g CH v 50 ml etanolu. Suspenze etanolu a antibakteriální látky byla vpravena do roztoku jílového minerálu. Směs byla zahřívána a promíchávána na elektromagnetické míchačce po dobu 5 hod. při teplotě 75 °C. Po ukončení procesu interkalace byla v centrifuze oddělená pevná a kapalná fáze. Pevný podíl byl sušen 24 hod. při 75 °C a na závěr homogenizován v achátové misce. Mechanicky interkalované vzorky nesou dále označení M_ZV350_12 a 1U_ZV350_12.

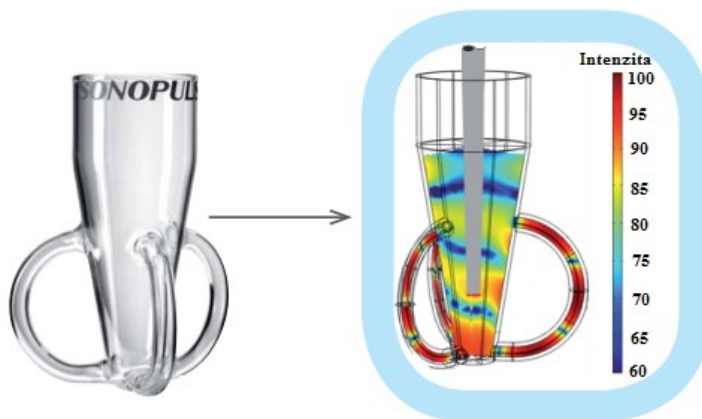
3.2.5 Ultrazvuková interkalace organické látky

Proces interkalace antibakteriální látky pomocí ultrazvukového působení je popsán na Obr. 9.



Obr. 9 - Schématický popis procesu interkalace ultrazvukovou syntézou [8]

Anorganický nanokompozitní materiál byl smíchán s 50 ml destilované vody a následně byl přimíchán roztok CH s etanolem. Do suspenze byla vložena sonotroda a směs byla podrobena dvojímu ultrazvukovému působení v časových intervalech 30 a 90 min. Připravený hybridní nanokompozitní materiál byl následně odstředěn, vysušen a homogenizován. V jedné z částí procesu interkalace CH ultrazvukem, byla využita pro syntézu hybridního nanokompozitního materiálu Rosetova nádoba (Obr. 10).



Obr. 10 - Rosetova nádoba [59]

Jednotlivě připravené vzorky a jejich značení jsou uvedeny v Tab. 1.

Tab. 1 - Značení připravených experimentálních vzorků

Označení vzorků	Příprava nanokompozitního materiálu ZnO/Ver 350		Interkalace antibakteriální látky (1:2) CH		
	mechanochem.	Ultrazvuk	mechanochem.	ultrazvuk	
			5 hod.	30 min	90 min
1U_ZV350		✓			
M_ZV350	✓				
M_ZV350_12	✓		✓		
1U_ZV350_12		✓	✓		
1U_ZV350_30_12		✓		✓	
1U_ZV350_90_12		✓			✓
1U_ZV350_30_12_C		✓		✓	
1U_ZV350_90_12_C		✓			✓

3.3 Použité analytické metody

Fázová charakteristika a molekulová struktura vzorků byla hodnocena pomocí rentgenové difrakční analýzy (RTG) a infračervené spektroskopie (FTIR). Analýza distribuce velikosti částic stanovila velikostní rozptýlení vzorků a jejich měrný povrch byl vyhodnocen pomocí analýzy specifického měrného povrchu. Obsah organické složky byl detekován na základě analýzy celkového obsahu uhlíku. Antibakteriální účinnost nanokompozitních materiálů a hybridních nanokompozitních materiálů byla stanovena prostřednictvím hodnot minimální inhibiční koncentrace (MIC) na čtyřech nejčastěji se vyskytujících bakteriálních kmenech.

3.3.1 Rentgenová difrakční analýza

Rentgenová difrakční analýza (RTG) poskytuje informace o strukturním a fázovém složení vzorku. Princip je založen na interakci elektronů atomů daného vzorku s rentgenovým zářením. V důsledku pružného rozptylu dochází k interferenci rentgenového záření a vzniku difraktovaných vln. Tyto vlny jsou následně detekovány a vytváří difrakční obrazec. Jednotlivá maxima na difraktogramu jsou následně přiřazena standardům odpovídajících fází [60].

Připravené vzorky byly charakterizovány na práškovém rentgenovém difraktometru od společnosti Rigaku Ultima IV. Pro detekci signálu byl použit scintilační detektor a difraktometr pracoval v Bragg-Brentanově uspořádání. Jako zdroj rentgenového záření sloužila měděná lampa $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,154 \text{ nm}$). Difrakční záznamy byly vytvořeny za konstantních podmínek.

3.3.2 Infračervená spektroskopie

Pro strukturní charakterizaci a identifikaci funkčních skupin organických a anorganických sloučenin slouží infračervená spektroskopie. Interakce a absorpce elektromagnetického záření látkou způsobuje vibrační excitaci kovalentně vázaných atomů a skupin. Kovalentní vazby v molekulách a atomech nejsou při působení infračerveného záření dostatečně stabilní, což vede ke změně rotačně vibračních energetických stavů molekuly [60].

Pro analýzu vzorků byla využita infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) převádějící interferometrický signál na infračervené záření. Infračervená (IR) spektra byla měřena na FTIR spektrometru značky Nexus 470 (ThermoScientific, USA). Technika bromidových pelet byla použita pro získání IR spekter. Pro přípravu bromidových pelet byly 2-3 mg vzorku homogenizovány s 200 mg čerstvě vyžíhaného bromidu draselného (KBr). Ze směsi byly následně za vakua po dobu 30 s lisovány tablety o průměru 13 mm. Pro komplementaci měření byla obdobným způsobem také vylisována tableta čistého KBr.

Získaná IR spektra byla následně podrobená spektrální úpravě. Byla provedena automatická korekce základní linie a odečteno spektrum čistého KBr. Pás oxidu uhličitého CO_2 při 2345 cm^{-1} byl nahrazen rovnou čarou. Výsledná spektra byla přepočtena na jednotnou navážku 1 mg za účelem sjednocení a porovnání jednotlivých spekter.

3.3.3 Analýza celkového obsahu uhlíku

Měřicí metoda je založena na zahřívání vzorku v proudu kyslíku O_2 . Během procesu dochází k oxidaci uhlikatých složek (vyjma karbidů) na oxid uhličitý CO_2 . Směs plynů CO_2 a O_2 je dále unášena ke třem IR detekčním celám detekující obsah CO_2 a H_2O ve vzorku. Koncentrace CO_2 je indikována poklesem napětí na fotodetektoru. Procentuální obsah uhlikatých složek je přepočítáván na navážku vzorku.

Měření probíhalo na analyzátoru značky Leco RC612 v rozsahu 100–1100 °C, s rychlostí růstu 60 °C/min. Pro jednu analýzu bylo použito 20 mg vzorku.

3.3.4 Distribuce velikosti částic

Měření distribuce velikosti částic pomocí laserové difrakce je založeno na úhlové změně intenzity odraženého světla procházející dispergovanými částicemi vzorku. Velké částice rozptylují světlo pod malými úhly, zatímco malé částice pod velkými. Na základě výpočtů z intenzity úhlového rozptylu je určena velikost částic. Velikost částic je ekvivalencí objemu k průměru koule [61].

Analýza jednotlivých experimentálních vzorků probíhala na laserovém difrakčním analyzátoru (HORIBA LA-950). Pro zvýšení výkonu byly použity dvě krátké vlnové délky světelného zdroje (modrá a červená), s dopředným a zpětným rozptylem. Analýza velikosti částic byla provedena s hodnotami indexu lomu 1,540 pro vermikulit a 1,333 pro destilovanou vodu [62].

Parametry průměru velikosti částic použité pro analýzu: d_{10} , d_{90} , d_{mean} a span. Hodnota d_{mean} určuje střední průměr částic a hodnota span podává informace o přesnosti měření. Přičemž by neměla přesahovat hodnotu 3.

3.3.5 Analýza měrného specifického povrchu

Analýza měrného specifického povrchu (SSA) byla měřena fyzisorpcí dusíku N_2 , při kryogenních podmínkách (tekutý N_2 -195 °C) na přístroji Thermo Scientific Surfer. Adsorpční izotermy byly vypočteny pomocí metody BET (Brunauer-Emmett-Teller), která pracuje na principu vícevrstevné adsorpce plynu na povrchu pevných látek. Odvození vychází z Lungmuirovy izotermy, pro monomolekulární vrstvu a má následující tvar [63]:

$$n_a = n_m \frac{C \frac{p}{p_0}}{\left(1 - \frac{p}{p_0}\right) \left[1 + (C - 1) \frac{p}{p_0}\right]} \quad (1)$$

kde n_a je adsorbované množství plynu, p – rovnovážný tlak adsorbátu, p_0 – saturační tlak adsorbátu, n_m – množství plynu v monovrstvě a C je BET konstanta [63].

Vzorky byly odplyňovány přes noc při 65 °C a z důvodů neznámých objemů byly také změřeny blanky pomocí helia He. Adsorpční/desorpční izotermy byly získány z oblasti relativního tlaku (p/p_0) od 0 do 1 při 77 K.

3.3.6 Antibakteriální testy

Pro stanovení in vitro antibakteriální aktivity připravených vzorků byly použity čtyři nejběžnější lidské bakteriální kmeny: *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Escherichia coli* CCM 395 a *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955.

Všechny uvedené bakteriální kmeny patří mezi běžně se vyskytující bakterie v lidském organismu. Gram pozitivní bakterie *S. aureus* a gram negativní *P. aeruginosa* se nejčastěji vyskytují v lidské dutině ústní. Zatímco gram pozitivní bakteriální kmeny *E. faecalis* a *E. coli* lze nalézt ve střevech, kde vytvářejí přirozenou mikroflóru trávicího traktu. V některých případech se za daných okolností tyto kmeny stávají patogeny nosokomiálních infekcí a v krajním případě mohou způsobit závažná smrtelná onemocnění. Vzhledem ke skutečnosti, že některé z těchto kmenů se staly rezistentní vůči řadě antibakteriálních látek, je nezbytné nalézt látky nové, eliminující a inhibující růst těchto mikroorganismů [52].

Jednotlivé bakteriální kmeny byly získány z České sbírky mikroorganismů (CCM, Česká Republika). Jako růstové médium byl použit vývar z glukózy (z angl.: glucose broth; HiMedia). Zakalení inokulace bakteriálních kmenů bylo měřeno pomocí denzitometru (DEN1 McFarland Densitometer – Biosan). Inkubace bakterií probíhala v biologickém termostatu (BT 120 M) při teplotě 37 °C.

U všech připravených vzorků byla určena minimální inhibiční koncentrace (MIC). MIC je nejnižší koncentrace antibakteriální látky, zabraňující bakteriálnímu růstu. Pro testování byly použity mikrotitrační jednorázové destičky a pro kultivaci bakterií komerční pevné krevní agarové destičky bez dalších úprav. Kapalně růstové médium bylo připraveno dle instrukcí výrobce a sterilizováno v autoklávě. Suspenze příslušných vzorků a růstového média byla zředěna na následující koncentrace: 5, 1.67, 0.56, 0.19, 0.062, 0.021 a 0.007 mg/ml. Použité bakteriální kmeny byly v následujících koncentracích: 1.7×10^{-9} (*S. aureus*), 1.6×10^{-9} (*E. faecalis*), 1.5×10^{-9} (*E. coli*) a 1.7×10^{-9} (*P. aeruginosa*) CFU/ml (CFU – jednotek tvořící kolonie, z angl. colony-forming units). Každá z titračních desek byla inokulována a testována za tmy bez ozáření. Testování probíhalo v daných časových intervalech: 30, 60, 90, 120, 180, 240 a 300 min, poté 1 den před, 1 den po, 2 dny před a 2

dny po. Živé bakteriální buňky byly po uplynutí časových intervalů přeneseny z reakčních desek do čistého růstového média pomocí inokulačního ježka. Tyto re-inokulované destičky byly dále inkubovány po dobu 24 hod. při 37 °C a poté byly na základě viditelného inhibičního růstu stanoveny hodnoty MIC.

3.4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V průběhu interkalace anorganického nanokompozitního materiálu organickou látkou pomocí ultrazvukové syntézy, byla v pravidelných intervalech (5 min) kontrolována teplota a pH. Výsledné hodnoty jednotlivých měření jsou zaznamenány v Tab. 2.

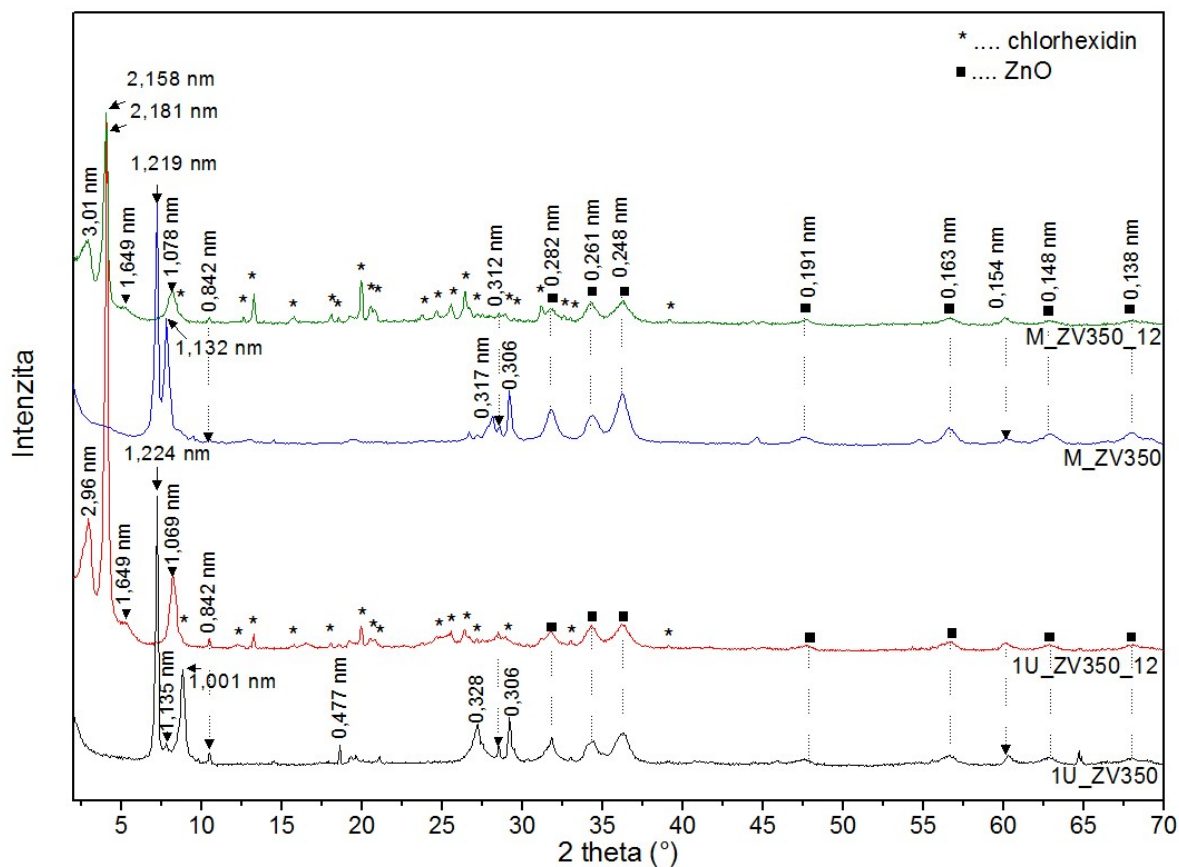
Tab. 2 - Naměřené hodnoty teploty a pH v průběhu interkalace

Vzorek	teplota [°C]	pH
1U_ZV350_30_12	60.5	9
1U_ZV350_90_12	65.0	9
1U_ZV350_30_12_C	53.0	9
1U_ZV350_90_12_C	53.8	9

U všech připravených vzorků byla naměřena stejná hodnota pH 9. Zásaditý charakter suspenze byl způsoben uvolněním hydroxylových skupin ze silikátových vrstev jílového minerálu - vermikulitu. Teplota u prvních dvou vzorků (1U_ZV350_30_12 a 1U_ZV350_90_12) narůstala v závislosti na délce působení ultrazvuku. V obou případech dosáhla teploty přes 60 °C. U zbylých dvou vzorků probíhala interkalace v Rosetově nádobě. Dle Obr. 10 je sonochemický proces v Rosetově nádobě doprovázen intenzivní cirkulací a homogenizací materiálu, spojenou s markantním zvýšením teploty suspenze zejména v postranních částech trubic. V našem případě však teplota nedosahovala příslušných hodnot a teplotní reakce probíhala zcela obráceně. Při experimentu byla teplota v postranních trubicích nižší než ve střední části nádoby a celková teplota suspenze ve srovnání s kádinkou o 10 °C nižší. Tato skutečnost byla pravděpodobně zapříčiněna nedostatečnou cirkulací materiálu v nádobě, jejíž rychlost byla zpomalena aglomeráty částic.

Rentgenové difrakční analýze (RTG) bylo celkem podrobena 8 vzorků. Difrakční záznamy anorganických nanokompozitních materiálů (1U_ZV350, M_ZV350) a

nanokompozitních materiálů interkalovaných CH (M_ZV350_12, 1U_ZV350_12) jsou zaznamenány na Obr. 11.

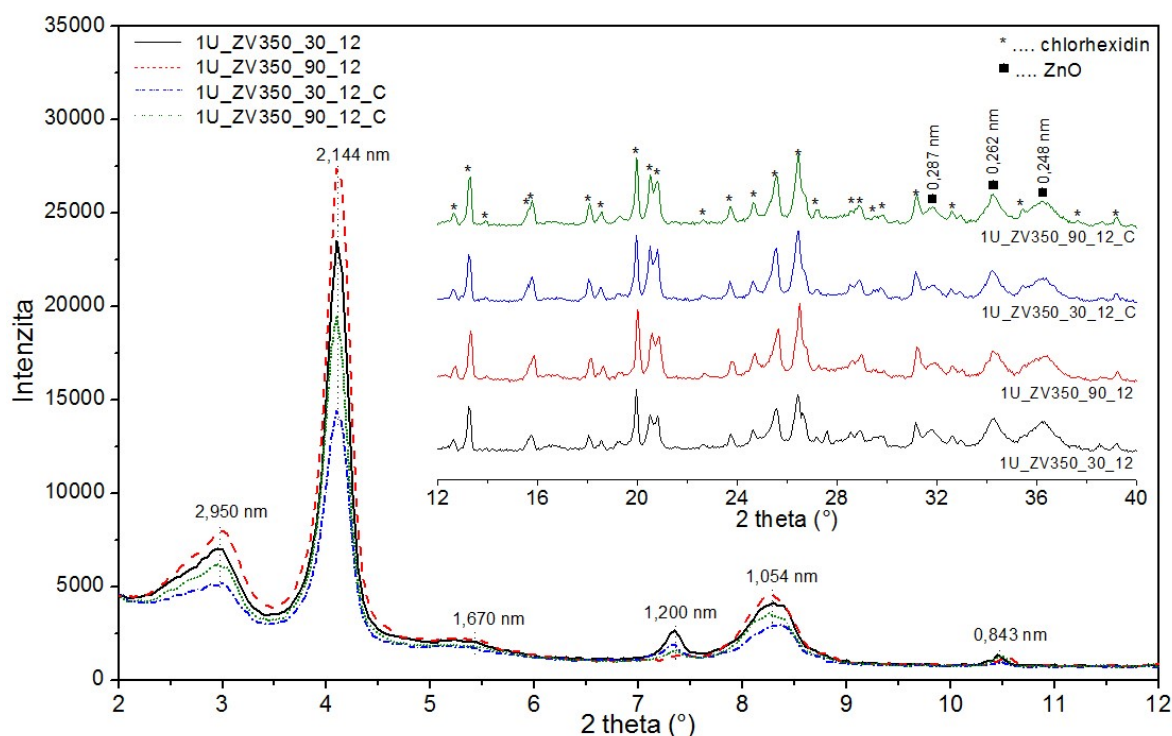


Obr. 11 - RTG difrakční záznamy anorganických a interkalovaných nanokompozitních materiálů

U obou vzorků anorganického nanokompozitního materiálu (1U_ZV350, M_ZV350) byla potvrzena přítomnost ZnO (PDF karta č. 01-079-0207). Intenzivní basální reflexe VER s hodnotami mezivrstevních vzdáleností $d = 1,224$ (1U_ZV350) a $d = 1,219$ nm (M_ZV350) odpovídají pravděpodobně interkalaci nanočástic ZnO ve VER struktuře [64]. Reflexe VER s hodnotami mezivrstevních vzdáleností $d = 1,135$ nm (1U_ZV350) a $d = 1,132$ nm (M_ZV350) mohou být připsány neúplně dehydratované struktuře VER. U vzorku 1U_ZV350 byl zaznamenán intenzivní pík s hodnotou 1.001 nm odpovídající dehydratované struktuře VER [66].

Difrakční záznamy vzorků interkalovaných CH potvrdily nejen přítomnost ZnO, ale také výskyt organické látky CH. U obou vzorků byl zaznamenán posun basální reflexe VER na hodnoty mezivrstevních vzdáleností $d = 2,96$ nm, 2,181 nm, 1,649 nm a 1,069 nm (1U_ZV350_12) a $d = 3,01$ nm, 2,181 nm, 1,158 nm a 1,649 nm (M_ZV350_12). Posun je

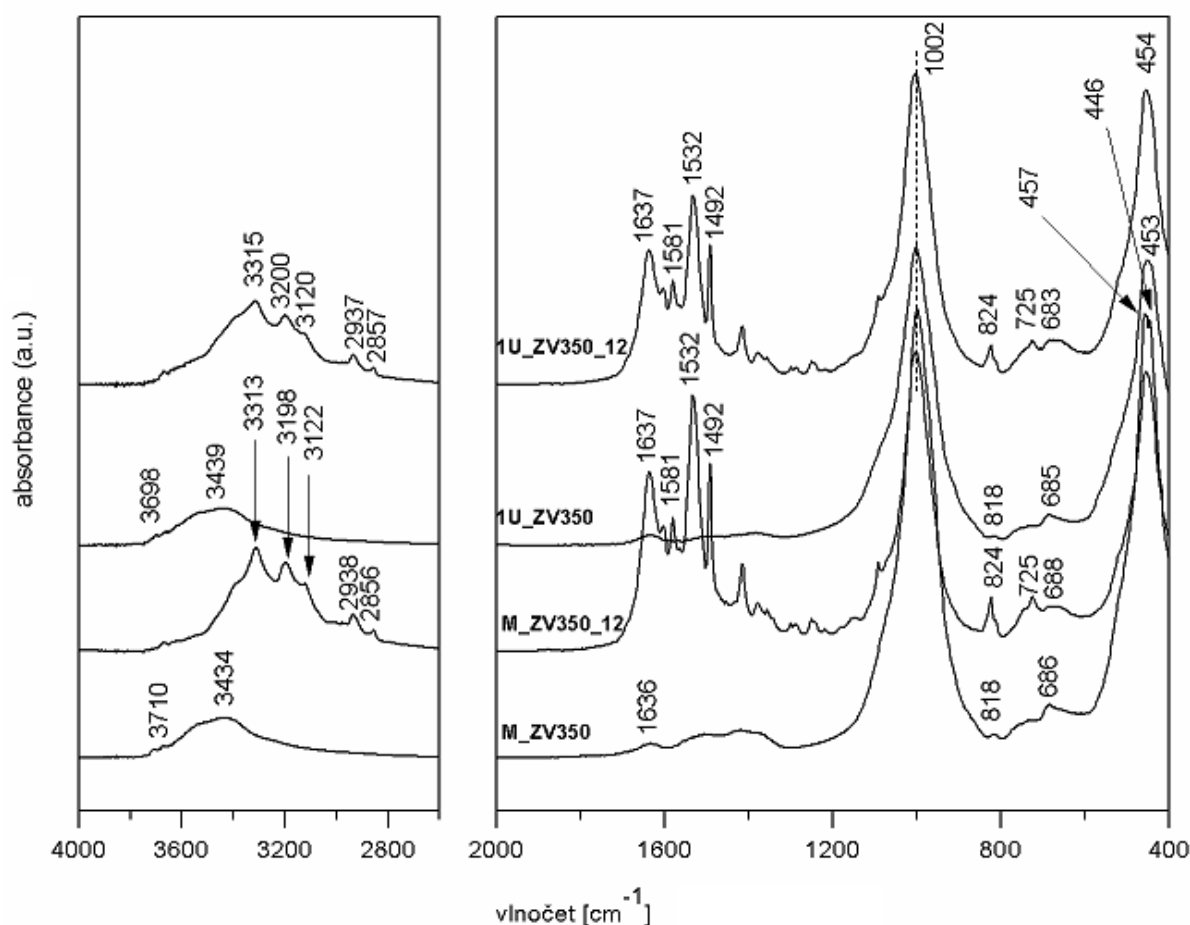
typický pro zvětšení mezivrstevného prostoru VER, ke kterému došlo v důsledku interkalace molekul CH do mezivrství.



Obr. 12 - RTG difrakční záznamy sonochemicky připravených hybridních nanokompozitních materiálů

Záznamy hybridních nanokompozitních materiálů připravených pouze sonochemickou cestou (1U_ZV350_30_12, 1U_ZV350_90_12, 1U_ZV350_30_12_C a 1U_ZV350_90_12_C) jsou vykresleny na Obr. 12. U všech těchto vzorků byla zaznamenána přítomnost antibakteriálních látek ZnO a CH. Basální reflexe VER s hodnotami mezivrstevných vzdáleností $d = 2,950$ nm, $2,144$ nm, $1,670$ nm a $1,054$ nm odpovídají interkalaci CH do mezivrství VER. Jednotlivé difrakční záznamy sonochemicky připravených hybridních nanokompozitních materiálu se lišily pouze změnou intenzity reflexí VER interkalovaného CH. Nejvyšší intenzita byla dosažena u vzorku 1U_ZV350_90_12. Tato skutečnost vypovídá o velkém množství CH nainterkalovaném v mezivrství. Nižší intenzita byla zaznamenána u vzorků připravených v Rosetově nádobě (1U_ZV350_30_12_C a 1U_ZV350_90_12_C). Na základě těchto výsledků a výsledků analýzy celkového obsahu uhlíku lze odvodit, že u vzorků interkalovaných v Rosetově nádobě došlo k zachycení většího množství CH na povrchu VER a k menší interkalaci do mezivrství oproti vzorkům připraveným v kádince.

Infračervená spektroskopie poskytla informace o strukturní charakteristice testovaných vzorků. Celkem bylo měřeno 6 vzorků interkalovaných CH a 2 vstupní anorganické nanokompozitní materiály.



Obr. 13 - IR spektra vstupních anorganických a mechanicky interkalovaných nanokompozitních materiálů

Na Obr. 13 jsou vyobrazena IR spektra vstupních vzorků (M_ZV350, 1U_ZV350) a dvou mechanochemicky interkalovaných vzorků (M_ZV350_12, 1U_ZV350_12). Vlnočty jednotlivých pásů a jejich charakteristické vibrace jsou popsány v Tab. 3. Vibrace odpovídající daným hodnotám byly přiřazeny na základě literatury [67].

Z porovnání IR spekter vstupních materiálů M_ZV350 a 1_UZV350 vyplynulo, že mezi zvolenými technikami přípravy nejsou patrné rozdíly. Oba vzorky disponují totožnými absorpčními pásy i intenzitou. Výjimku tvoří pouze pás v oblasti okolo 450 cm^{-1} u vzorku M_ZV350, kdy u tohoto vzorku došlo k rozdělení píku na dvě hodnoty 457 cm^{-1} a 446 cm^{-1} , odpovídající valenčním vibračním vazby Zn-O, resp. deformačním vibračním vazeb Si-O ve

vermikulitu. Absorpční pás okolo 680 cm^{-1} vypovídá dle Farmera [68] o trioktaedrickém charakteru vermikulitu.

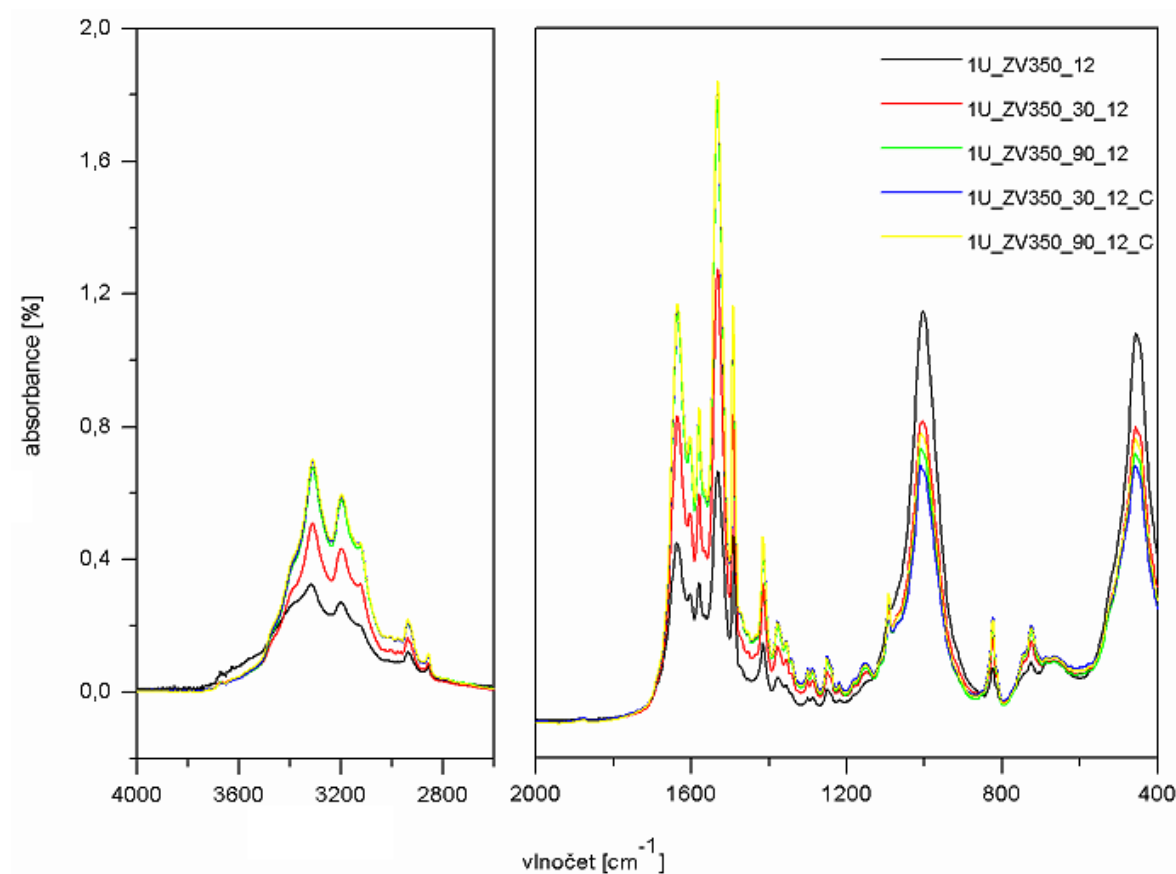
Tab. 3 - Nejvýznamnější hodnoty absorpčních pásu pro vybrané vzorky

Vzorek	Vlnočet [cm^{-1}]	Charakteristické vibrace
M_ZV350	3434	O-H valenční vibrace adsorbované vody
	1636	O-H deformační vibrace adsorbované vody
	1002	Si-O valenční vibrace vermikulitu
	686	O-H valenční vibrace
	457	Zn-O valenční vibrace
	446	Si-O deformační vibrace vermikulitu
1U_ZV350	3439	O-H valenční vibrace adsorbované vody
	1002	Si-O valenční vibrace vermikulitu
	685	O-H valenční vibrace
	453	Zn-O valenční vibrace
M_ZV350_12 1U_ZV350_12	3315-3120	N-H symetrické valenční vibrace
	2938/2937	C-H asymetrické valenční vibrace methylenových skupin
	2857/2856	C-H symetrické valenční vibrace methylenových skupin
	1637	C=N valenční vibrace iminů
	1581-1492	N-H deformační vibrace sekundárních aminů a iminů
	824	C-H mimorovinné deformační vibrace 1,4-disubstituovaného aromatického kruhu

U vzorků M_ZV350_12 a 1U_ZV350_12 vznikly v důsledku interkalace CH nové absorpční pásy. Oblast okolo $3300\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ odpovídá N-H symetrickým valenčním vibracím sekundárních iminů a aminů. Zde pravděpodobně došlo k navázání organické látky k jílové matici skrze vodíkové vazby. Přítomnost CH ve struktuře potvrdila také intenzivní absorpce v 1637 cm^{-1} charakteristická pro C=N valenční vibrace iminů, a $1581\text{--}1492\text{ cm}^{-1}$ příslušící N-H valenčním vibracím sekundárních iminů a aminů. U obou vzorků nedošlo k poklesu intenzity píku odpovídající vazbě Zn-O (453 cm^{-1}).

Na Obr. 14 jsou společně vykresleny IČ spektra vzorků připravených pouze sonochemickou cestou. Jednotlivé vlnočty v záznamu nejsou zakresleny, jelikož se kvalitativně neliší od vzorků M_ZV350_12 a 1U_ZV350_12 na obr 13. Rozdílná je však intenzita absorpčních pásů, ta se liší v závislosti na odlišných podmínkách interkalace. Změna intenzity úzce souvisí s obsahem organické složky ve vzorku. Zejména při absorpci

okolo 1002 cm^{-1} a 447 cm^{-1} odpovídající valenčním, resp. deformačním vibracím Si-O vazeb je patrné, že intenzita píků klesá v závislosti na zvyšujícím se množství CH ve vzorku. Z výsledku lze konkludovat, že s narůstající dobou interkalace roste také množství nainterkalované látky. Tuto skutečnost mimo jiné potvrdily také výsledky analýzy celkového obsahu uhlíku. Na základě výsledků z infračervené spektroskopie nelze dedukovat vliv použité nádoby na interkalační proces.



Obr. 14 - IR spektra vybraných vzorků hybridních nanokompozitních materiálů

Analýze celkového obsahu uhlíku bylo podrobena celkem 6 vzorků. Z výsledku z Tab. 4 je patrné, že nejnižší obsah uhlíku mají vzorky, které byly interkalovány mechanochemickou cestou (M_UV350_12 a 1U_ZV350_12). Nejmenší naměřenou hodnotou disponoval vzorek, jehož anorganický nanokompozitní materiál byl připraven ultrazvukovým působením. Tato skutečnost je zřejmě způsobena velkým narušením struktury ultrazvukem a nedostatečným prostorem k uchycení molekul CH mezi vermikulitové vrstvy. U všech hybridních nanokompozitních vzorků připravených pouze sonochemickou metodou byl zaznamenán vysoký procentuální podíl celkového uhlíku. U vzorků 1U_ZV350_30_12 a 1U_ZV350_90_12 je patrné, že s narůstajícím časovým intervalem množství CH v materiálu rostlo. V případě zbylých dvou vzorků připravených

v Rosetově nádobě se celkový obsah pohyboval mezi nejvyššími hodnotami. Z daných výsledků však nelze prokázat časovou závislost délky působení UZ na množství interkalovaného materiálu. Na základě této analýzy lze dedukovat, že ultrazvuk napomáhá jednak k nainterkalování většího množství látky do struktury a také oproti mechanochemické cestě značně zkracuje dobu interkalace, a tudíž představuje vhodnou a rychlou metodu pro interkalaci.

Tab. 4 - Naměřené výsledky celkového obsahu uhlíku

Vzorek	Celkový obsah uhlíku
	%
M_ZV350_12	18,54
1U_ZV350_12	13,86
1U_ZV350_30_12	22,59
1U_ZV350_90_12	27,44
1U_ZV350_30_12_C	27,62
1U_ZV350_90_12_C	26,42

Měření velikosti částic a distribuce velikosti částic hybridních nanokompozitních materiálů bylo provedeno u všech interkalovaných vzorků a také na vstupním anorganickém nanokompozitním materiálu (M_ZV350_12, 1U_ZV350_12, 1U_ZV350_30_12, 1U_ZV350_90_12, 1U_ZV350_30_12_C, 1U_ZV350_90_12_C). Výsledky měření jsou zaznamenány v Tab. 5. Mechanochemický proces přípravy vstupního anorganického nanokompozitního materiálu přispěl ke zmenšení velikosti částic. Nicméně kombinací obou metod přípravy vznikly částice značně větší rozměrů. Příčinu lze hledat v koagulaci částic a vzniku jejich aglomerátů. Hybridní nanokompozitní materiály syntetizované pouze sonochemicky vykazovaly téměř dvojnásobně nižší hodnoty středního průměru (d_{mean}). U vzorků 1U_ZV350_30_12 a 1U_ZV350_90_12 byl naměřen nejužší distribuční interval hodnot, který se pohyboval v intervalu od 1,82 μm (d_{10}) do 10,15 μm (d_{90}). Z měřených distribucí velikostí částic, lze usoudit, že působení ultrazvuku v průběhu interkalace napomáhá ke zmenšení velikosti částic.

Tab. 5 - Výsledné hodnoty měření distribuce velikosti částic pro jednotlivé vzorky

Vzorek	d ₁₀	d ₉₀	mean	span
	[μm]	[μm]	[μm]	
1U_ZV350	5,53	21,62	12,55	1,48
M_ZV350	3,96	14,15	8,61	1,33
M_ZV350_12	3,23	16,79	14,1	1,85
1U_ZV350_12	2,03	105,05	39,37	5,30
1U_ZV350_30_12	2,53	9,51	5,83	1,24
1U_ZV350_90_12	1,82	10,15	5,89	1,48
1U_ZV350_30_12_C	2,08	10,77	6,19	1,49
1U_ZV350_90_12_C	0,60	12,34	6,69	1,87

Velikost specifického povrchu byla stanovena na základě BET izotermy. Měření bylo provedeno u celkem 7-mi experimentálních vzorků (Tab. 6). Nejvyšším specifickým povrchem o velikosti 22,99 m².g⁻¹ disponoval anorganický nanokompozitní materiál 1U_ZV350.

Tab. 6 - Velikost měrných povrchů testovaných vzorků

Vzorek	Měrný specifický povrch
	[m ² .g ⁻¹]
1U_ZV350	22,99
M_ZV350_12	18,76
1U_ZV350_12	22,02
1U_ZV350_30_12	17,69
1U_ZV350_90_12	15,23
1U_ZV350_30_12_C	14,46
1U_ZV350_90_12_C	14,50

Vysoká hodnota specifického povrchu je charakteristická pro pórovité vzorky. Avšak po procesu interakalace CH došlo ke snížení této hodnoty. Ke zmenšení velikosti specifického značně přispěla organická látka, která se nejen nainterkalovala do mezivrstev, ale také se zachytila na povrchu vzorku. Na povrchu zaplnila přítomné póry a vytvořila tak

kompaktnější materiál. Nejnižší hodnoty byly zaznamenány u vzorků interkalovaných sonochemicky v Rosetově nádobě (1U_ZV350_30_12_C a 1U_ZV350_90_12_C). Výsledky jsou v souladu s naměřenými hodnotami celkového množství uhlíku.

Antibakteriální aktivita byla vyhodnocena na základě MIC hodnot vůči čtyřem bakteriálním kmenům: *S. Aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* a *P. aeruginosa* (viz tab.7-10). Testování probíhalo za tmy a v různých časových intervalech.

V případě bakterie *S. aureus* vykazovaly všechny vzorky antibakteriální aktivitu. Vzorky interkalované CH již po 30 min dosahovaly velmi nízkých MIC hodnot. V intervalech delších než 300 min došlo zcela k úhynu bakterie. Nejúčinnější byly vzorky 1U_ZV350_30 a 1U_ZV350_90 jejichž hodnoty MIC, byly více než dvojnásobně nižší než u ostatních vzorků. Po 30 min jejich hodnoty dosahovaly 0,062 mg/ml.

Excelentní účinnost v krátkém časovém období vůči gram pozitivní bakterii *E. faecalis* byla zaznamenána u všech interkalovaných vzorků. K celkové inhibici bakterie došlo po 1 dni. Nejlepších výsledků opět dosahovaly vzorky připravené pouze sonochemicky. U anorganických nanokompozitních vzorků (1U_ZV350 a M_ZV350) nebylo možno antibakteriální aktivitu určit, jelikož hodnoty MIC byly vyšší než použité koncentrační rozpětí.

Interkalované vzorky vykazovaly rovněž vynikající antibakteriální účinnost po 30 minutách vůči gram pozitivní bakterii *E. coli*. K úplné inhibici bakteriálního kmene došlo po více než 300 min. Antibakteriální aktivita byla zpozorována také u anorganických nanokompozitních vzorků 1U_ZV350 a M_ZV350, jejichž MIC hodnoty dosahovaly po 2 dnech 5 gm/ml, respektive 1, 67 mg/ml.

U rezistentního kmene gram pozitivní bakterie *P.aeruginosa* byly zpozorovány vyšší hodnoty. Minimální inhibiční hodnota byla zaznamenána i po 2 dnech působení. K úplnému vymizení bakterií v testovaném časovém intervalu nedošlo, což svědčí o velké rezistenci kmene, ve srovnání s ostatními kmeny. Nejnižších hodnot MIC dosahovaly hybridní nanokompozitní materiály připravené pouze pomocí ultrazvuku.

Testování antibakteriální účinnosti potvrdilo aktivitu všech připravených hybridních nanokompozitních vzorků vůči testovaným bakteriálním kmenům. Antibakteriální aktivita byla znásobena použitím dvou antibakteriálních látek CH a ZnO. Bylo dosaženo znamenitých výsledků již po krátkém časovém intervalu (30 min). Tato skutečnost je částečně zapříčiněna nejen vysokým podílem CH ve vzorku, ale také společnou kombinací

s nanočásticemi ZnO. Všechny interkalované vzorky navíc vykazovaly vynikající antibakteriální aktivitu i při delších expozicích, to znamená že tyto vzorky mohou být použity jako dlouhodobě působící antibakteriální materiál. Při porovnání vzorků připravených různou kombinací metod je evidentní, že nejlepších výsledků dosahovaly vzorky připravené pouze sonochemicky. Dále z dosavadních výsledků plyne, že gram pozitivní bakterie (*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*) jsou citlivější než rezistentní kmen *P.aeruginosa*.

Tab. 7 – Antibakteriální testy. MIC hodnoty pro bakteriální kmen *Staphylococcus aureus* CCM 3953

vzorek/čas	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den před	1 den po	2 den před	2 den po
M_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	5.00	0.56	0.06	0.06
1U_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	0.06	0.06
M_ZV350_12	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.19	0.19	-	-	-	-
1U_ZV350_12	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.19	0.19	-	-	-	-
1U_ZV350_30_12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	-	-	-	-
1U_ZV350_90_12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	-	-	-	-
1U_ZV350_30_12_C	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	-	-	-	-
1U_ZV350_90_12_C	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	-	-	-	-

*NM-nekonečně mnoho

Tab. 8 - Antibakteriální testy. MIC hodnoty pro bakteriální kmen *Enterococcus faecalis* CCM 4224

vzorek/čas	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den před	1 den po	2 den před	2 den po
M_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM
1U_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM
M_ZV350_12	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	-	-
1U_ZV350_12	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	0.19	0.06	-	-
1U_ZV350_30_12	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	0.19	0.06	-	-
1U_ZV350_90_12	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.06	0.06	-	-
1U_ZV350_30_12_C	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.06	-	-
1U_ZV350_90_12_C	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.06	0.06	-	-

*NM-nekonečně mnoho

Tab. 9 - Antibakteriální testy. MIC hodnoty pro bakteriální kmen *Escherichia coli* CCM 3954

vzorek/čas	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den před	1 den po	2 den před	2 den po
M_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	1.67	1.67	1.67	1.67
1U_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	5	5
M_ZV350_12	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.19	0.19	-	-	-	-
1U_ZV350_12	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	-	-	-	-
1U_ZV350_30_12	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.06	-	-	-	-
1U_ZV350_90_12	0.19	0.19	0.19	0.19	0.06	0.06	0.06	-	-	-	-
1U_ZV350_30_12_C	0.06	0.06	0.06	0.19	0.19	0.19	0.19	-	-	-	-
1U_ZV350_90_12_C	0.06	0.06	0.06	0.19	0.19	0.19	0.19	-	-	-	-

*NM-nekonečně mnoho

Tab. 10 - Antibakteriální testy. MIC hodnoty pro bakteriální kmen *Pseudomonas aeruginosa* CCM 3955

vzorek/čas	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den před	1 den po	2 den před	2 den po
M_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	5	5
1U_ZV350	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM
M_ZV350_12	1.67	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.06	0.06	0.06	0.06
1U_ZV350_12	1.67	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.06	0.06	0.06	0.06
1U_ZV350_30_12	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
1U_ZV350_90_12	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
1U_ZV350_30_12_C	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.19	0.06	0.06	0.06	0.06
1U_ZV350_90_12_C	0.56	0.56	0.56	0.56	0.19	0.19	0.19	0.06	0.06	0.06	0.06

*NM-nekonečně mnoho

ZÁVĚR

Hybridní nanokompozitní materiály představují perspektivní oblast materiálů s širokým spektrem aplikací. Jedinečná kombinace organické a anorganické složky dodává materiálu nejen vlastnosti jednotlivých komponent, ale zároveň vytváří vlastnosti zcela nové.

Cílem diplomové práce bylo připravit nové antibakteriální hybridní nanokompozitní materiály za různých podmínek a rozdílných koncentracích organické složky, pomocí mechanochemické a sonochemické metody.

Metodou rentgenové difrakční analýzy (RTG) a infračervené spektroskopie (FTIR) byla provedena fázová a strukturní analýza. Ve všech vzorcích hybridních nanokompozitních materiálů byla potvrzena přítomnost chlorhexidinu i oxidu zinečnatého. RTG analýza poukázala na skutečnost, že interkalace v běžné kádince prostřednictvím ultrazvuku napomáhá k efektivnější interkalaci chlorhexidinu do mezivrstev vermikulitu, zatímco interkalace v Rosetově nádobě přispívá k zachycení většího množství molekul chlorhexidinu na povrchu vermikulitu.

Na základě analýzy celkového obsahu uhlíku byla u všech připravených hybridních nanokompozitních materiálů prokázána přítomnost vysokého procenta celkového uhlíku. Dále bylo zjištěno, že prodlužující se doba interkalace vede ke zvýšení množství chlorhexidinu ve struktuře. Nejvyšší hodnoty celkového obsahu uhlíku byly zaznamenány u vzorků připravených pouze sonochemickou metodou.

Výsledky analýzy velikosti částic potvrdily, že ultrazvuková metoda přispívá ke zmenšení velikosti částic a jejich velikostní homogenizaci. Redukce velikosti částic sonochemickou metodou je účinnější v porovnání s mechanochemickou syntézou nebo její kombinací s ultrazvukem. Z výsledků analýzy měrného specifického povrchu je patrné, že v důsledku interkalace chlorhexidinu dochází ke zmenšení měrného povrchu částic. S narůstajícím množstvím organické látky (chlorhexidinu) ve vzorcích klesaly hodnoty specifického povrchu a materiál byl kompaktnější.

Antibakteriální testování realizované za tmy potvrdilo vynikající antibakteriální aktivitu u všech vzorků hybridního nanokompozitního materiálu. Testování probíhalo na bakteriálních kmenech: *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* a *P. aeruginosa*. Již po 30 minutách expozice byly zaznamenány velice nízké hodnoty minimální inhibiční koncentrace (MIC).

Vynikající aktivita je přičítána kombinaci dvou antibakteriálních látek oxidu zinečnatého a chlorhexidinu ve struktuře. Antibakteriálně nejúčinnější byly vzorky připravené výhradně sonochemickou metodou. Po delších časových expozicích byla zaregistrována také antibakteriální aktivita vůči *S. aureus* a *E. coli* u vzorků čistého anorganického nanokompozitního materiálu (M_ZV350, 1U_ZV350).

Deklarované cíle diplomové práce byly splněny a závěrem lze shrnout, že sonochemická metoda představuje perspektivní a účinnou metodu přípravy hybridních nanokompozitních materiálů. V porovnání s konvenčními interkalačními metodami se jeví jako vhodná a rychlá metoda zvyšující množství interkalované látky.

Výsledky diplomové práce byly publikovány v impaktovaném časopise Journal of Nanocomposites and Nanomaterials (2017, v řízení).

Diplomová práce byla vypracována s finanční podporou projektu SGS SP2017/45 „Nanostrukturované kompozitní materiály“.

LITERATURA

- [1] BAKSI, Sangeeta a BISWAS, Soumitra. Nanocomposites – An Overview. *The Scitech Journal*. 2014, **01**(05), 22-30. ISSN 2347-7318
- [2] CAMARGO, P. H. C., SATYANARAYANA, K.G. A WYPYCH, F. Nanocomposites: Synthesis, Structure, Properties and New Application Oppurtunities. *Material Research*. 2009, 12 (1). ISSN 1516-1439
- [3] SANCHEZ, C., JULIÁN, B., BELLEVILLE, P. a POPALL, M.. Applications of hybrid organic–inorganic nanocomposites. *Journal of Materials Chemistry* [online]. 2005, **15**, 3559-3592 [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z doi:10.1039/b509097k
- [4] MERHARI, Lhadi. Hybrid nanocomposites for nanotechnology: electronic, optical, magnetic and biomedical applications. New York: Springer, 2009. ISBN 978-0-387-72398-3
- [5] KALIA, S a HALDORAI, Y. Organic – Inorganic Hybrid Nanomaterials. New York: Springer, 2015. ISBN 978-3-319-13592-2
- [6] WEISS, Zdeněk a KUŽVART, Miloš. *Jílové minerály: jejich nanostruktura a využití*. Karolinum, 2005. ISBN 978-80-2460-868-6
- [7] VALÁŠKOVÁ, Marta. *Vybrané vrstevnaté silikáty a jejich modifikované nanomateriály*. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2012. ISBN 978-80-7204-811-3
- [8] CHATEL, Gregory, Liudmila NOVIKOVA a Sabine PETIT. How efficiently combine sonochemistry and clay science? *Applied Clay Science* [online]. 2016, **119**, 193-201 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2015.10.019
- [9] HONGO, Teruhisa, Shota YOSHINO, Atsushi YAMAZAKI, Akihiro YAMASAKI a Shigeo SATOKAWA. Mechanochemical treatment of vermiculite in vibration milling and its effect on lead (II) adsorption ability. *Applied Clay Science* [online]. 2012, **70**, 74-78 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2012.09.016
- [10] ALI, F., REINERT, L., LEVÊQUE, J.-M., DUCLAUX, L., MULLER, F., SAEED, S. a SHAH, S. S. Effect of sonication conditions: Solvent, time, temperature and reactor

- type on the preparation of micron sized vermiculite particles. *Ultrasonics Sonochemistry* [online]. 2014, **21**, 1002-1009. [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z doi: 10.1016/j.ultsonch.2014.10.010
- [11] MALANDRINO, M., O. ABOLLINO, A. GIACOMINO, M. ACETO a E. MENTASTI. Adsorption of heavy metals on vermiculite: Influence of pH and organic ligands. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2006, **299**(2), 537-546 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 00219797. Dostupné z doi: 10.1016/j.jcis.2006.03.011
- [12] MOGHIMI, Nafiseh, F.R. RAHSEPAR a K.T. LEUNG. Supported binary hybrid nanomaterials and their applications. *Coordination Chemistry Reviews* [online]. 2016, **320-321**, 82-99 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 00108545. Dostupné z doi: 10.1016/j.ccr.2016.04.011
- [13] ZHANG, Q., ZHANG, K., XU, D., YANG, G., HUANG, H. NIE, F., LIU, Ch., YANG, S. CuO nanostructures: Synthesis, characterization, growth mechanisms, fundamental properties, and applications. *Progress in Materials Science*. 2014, **60**, 208–337.
- [14] HOCHMANNOVÁ, L. a VYTRÁSOVÁ, J. Vliv nanočástic TiO₂ a ZnO na fotokatalytické a antimikrobiální účinky silikátových vrstev. *Chemické listy*. 2010, **104**, 940-944.
- [15] JAGADISH, Chennupati a PEARTON, Stephen. *Zinc oxide bulk, thin films and nanostructures: processing, properties and applications*. Boston: Elsevier, 2006. ISBN 00-804-4722-8
- [16] CALLISTER, William D. *Materials science and engineering: an introduction*. 7th ed. New York: John Wiley, c2007. ISBN 978-0-471-73696-7
- [17] AMIN, Gul. *ZnO and CuO Nanostructures: Low Temperature Growth, Characterization, their Optoelectronic and Sensing Applications*. Linköping University Electronic Press, 2012. ISBN: 978-91-7519-912-2, ISSN: 0345-7524
- [18] SHARIFALHOSEINI, Zahra, Mohammad H. ENTEZARI a Razieh JALAL. Direct and indirect sonication affect differently the microstructure and the morphology of ZnO nanoparticles: Optical behavior and its antibacterial activity. *Ultrasonics*

- Sonochemistry* [online]. 2015, **27**, 466-473 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 13504177. Dostupné z doi: 10.1016/j.ultsonch.2015.06.016
- [19] MA, Jinxia, Wenhua ZHU, Yajun TIAN a Zhiguo WANG. Preparation of Zinc Oxide-Starch Nanocomposite and Its Application on Coating. *Nanoscale Research Letters* [online]. 2016, **11**(1) [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 1931-7573. Dostupné z doi: 10.1186/s11671-016-1404-y
- [20] LEITNER, J. a SEDMIDUBSKÝ, D. Příprava, vlastnosti a využití nanostrukturovaného ZnO. *Chemické listy*. 2016, **110**, 406-417.
- [21] ALSWAT, Abdullah A., Mansor Bin AHMAD, Tawfik A. SALEH, Mohd Zobir Bin HUSSEIN a Nor Azowa IBRAHIM. Effect of zinc oxide amounts on the properties and antibacterial activities of zeolite/zinc oxide nanocomposite. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2016, **68**, 505-511 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 09284931. Dostupné z doi: 10.1016/j.msec.2016.06.028
- [22] AKKARI, M., P. ARANDA, H. BEN RHAJEM, A. BEN HAJ AMARA a E. RUIZ-HITZKY. ZnO/clay nanoarchitectures: Synthesis, characterization and evaluation as photocatalysts. *Applied Clay Science* [online]. 2016, **131**, 131-139 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2015.12.013.
- [23] MARTYNKOVÁ, Grażyna Simha, H RUEMMELI, Mark a ČECH BARABASZOVÁ, Karla. *Introduction to nanocomposite science of layered and tubular materials*. Hauppauge, N. Y.: Nova Science Publishers, 2012. ISBN 978-160-7417-392
- [24] OLAD, Ali. Polymer/Clay Nanocomposites. *Advances in Diverse Industrial Applications of Nanocomposites*. In-Tech, 2011. ISBN: 978-953-307-202-9
- [25] JIANG, Xianjin, Mikhaylo A. TRUNOV, Mirko SCHOENITZ, Rajesh N. DAVE a Edward L. DREIZIN. Mechanical alloying and reactive milling in a high energy planetary mill. *Journal of Alloys and Compounds* [online]. 2009, **478**(1-2), 246-251 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 09258388. Dostupné z doi: 10.1016/j.jallcom.2008.12.021
- [26] DAS, Ranjana, Sanjana GHOSH a Chiranjib BHATTACHARJEE. A green practice for pharmaceutical drug chlorhexidine digluconate treatment and ecotoxicity

- assessment. *Journal of Water Process Engineering* [online]. 2015, **7**, 266-272 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 22147144. Dostupné z doi: 10.1016/j.jwpe.2015.05.005
- [27] SAHA, Kasturi, B.S. BUTOLA a Mangala JOSHI. Synthesis and characterization of chlorhexidine acetate drug–montmorillonite intercalates for antibacterial applications. *Applied Clay Science* [online]. 2014, **101**, 477-483 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2014.09.010
- [28] CHEN, Dong., Sanjay Kumar. SHARMA a Ackmez. MUDHOO. *Handbook on applications of ultrasound: sonochemistry for sustainability*. Boca Raton, FL: CRC Press, c2012. ISBN 978-1-4398-4206-5
- [29] BALÁŽ Peter. *Mechanochemistry in Nanoscience and Minerals Engineering*. Springer: Berlín, 2010. ISBN 978-3-642-09426-2
- [30] HUOT, Jacques a BALEMA, Viktor. Mechanochemical Effect of Severe Plastic Deformations: Metal Alloys, Hydrides and Molecular Solids. *Material Matters* [online]. 2011, 5. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/material-matters/mechanochemical-effect.html>
- [31] WIECZOREK-CIUROWA, K. a GAMRAT, K. Some aspects of mechanochemical reactions. *Material Science – Poland*. 2007, **25** (1). ISSN 2083-1331
- [32] MAKÓ, Éva, János KRISTÓF, Erzsébet HORVÁTH a Veronika VÁGVÖLGYI. Mechanochemical intercalation of low reactivity kaolinite. *Applied Clay Science* [online]. 2013, **83-84**, 24-31 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2013.08.002
- [33] HRACHOVÁ, Jana, Peter KOMADEL a Vladimír Štefan FAJNOR. The effect of mechanical treatment on the structure of montmorillonite. *Materials Letters* [online]. 2007, **61**(16), 3361-3365 [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z doi: 10.1016/j.matlet.2006.11.063. ISSN 0167577x
- [34] TADJARODI, A., M. IZADI a M. IMANI. Synthesis and characterization of the special ZnO nanostructure by mechanochemical process. *Materials Letters* [online]. 2013, **92**, 108-111 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN: 0167577x. Dostupné z: www.linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X12014772

- [35] BEKRI-ABBES, Imene a Ezzeddine SRASRA. Solid phase mechanochemical synthesis of polyaniline-montmorillonite nanocomposite using grinded montmorillonite as oxidant. *Materials Science in Semiconductor Processing* [online]. 2016, **56**, 76-82 [cit. 22. 4. 2017]. DOI: 10.1016/j.mssp.2016.07.020. ISSN 13698001. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369800116302311>
- [36] ULTRAZVUKOVÉ HOMOGENIZÁTORY UP50H A UP100H. Pragolab s.r.o., 2012, [online] [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z: <http://www.pragolab.eu/produkt/319/ultrazvukove-homogenizatory-up50h-a-up100h>
- [37] SUSLICK, K. S., DIDENKO, Y., FANG, M.M., HYEON, T., KOLBECK, K.J., MCNAMARA III, W.B., MDLELENI, M.M. a WONG, M. Acoustic cavitation and its chemical consequences. *M. Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1999, **357**, 335–353.
- [38] HIELSCHER-ULTRASOUND TECHNOLOGY. *Ultrasonic crystallization and precipitation*. Hielscher [online]. Dostupné z: <https://www.hielscher.com/ultrasonic-crystallization-and-precipitation.htm>
- [39] YU, Huawa, Huiqing FAN, Xin WANG, Jing WANG a Pengfei CHENG. Synthesis of flower-like ZnO nanostructures by sonochemical route and their photocatalytic activity. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics* [online]. 2015, **126**(23), 4397-4400 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 00304026. Dostupné z doi: 10.1016/j.ijleo.2015.08.174
- [40] NGUYEN, A.N., L. REINERT, J.-M. LÉVÊQUE, A. BEZIAT, P. DEHAUDT, J.-F. JULIAA a L. DUCLAUX. Preparation and characterization of micron and submicron-sized vermiculite powders by ultrasonic irradiation. *Applied Clay Science* [online]. 2013, **72**, 9-17 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2012.12.007
- [41] PÉREZ-RODRÍGUEZ, J.L., J. PASCUAL, F. FRANCO, M.C. JIMÉNEZ DE HARO, A. DURAN, V. RAMÍREZ DEL VALLE a L.A. PÉREZ-MAQUEDA. The influence of ultrasound on the thermal behaviour of clay minerals. *Journal of the European Ceramic Society* [online]. 2006, **26**(4-5), 747-753 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 09552219. Dostupné z doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2005.07.015

- [42] ONDER, Emel, Nihal SARIER, Gokcen UKUSER, Mehmet OZTURK a Refik ARAT. Ultrasound assisted solvent free intercalation of montmorillonite with PEG1000: A new type of organoclay with improved thermal properties. *Thermochimica Acta* [online]. 2013, **566**, 24-35 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 00406031. Dostupné z doi: 10.1016/j.tca.2013.05.021
- [43] SINGLETON, P. *Bacteria in biology, biotechnology, and medicine*. New York: John Wiley & Sons, 2004. ISBN 0470090278
- [44] HOLEŠOVÁ, Sylva, Jan ŠTEMBÍREK, Ladislava BARTOŠOVÁ, Gabriela PRAŽANOVÁ, Marta VALÁŠKOVÁ, Magda SAMLÍKOVÁ a Erich PAZDZIORA. Antibacterial efficiency of vermiculite/chlorhexidine nanocomposites and results of the in vivo test of harmlessness of vermiculite. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2014, **42**, 466-473 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 09284931. Dostupné z doi: 10.1016/j.msec.2014.05.054
- [45] WU, Yue, Ninglin ZHOU, Wenhao LI, Hao GU, Yunting FAN a Jiang YUAN. Long-term and controlled release of chlorhexidine–copper(II) from organically modified montmorillonite (OMMT) nanocomposites. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2013, **33**(2), 752-757 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 09284931. Dostupné z doi: 10.1016/j.msec.2012.10.028
- [46] LI, B., YU, S. , HWANG, J.Y. a SHI, S. Antibacterial Vermiculite Nano-Material. *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*. 2002, **1**, 66-68. ISSN 2327-4077
- [47] YAMAMOTO, O., HOTTA, M., SAWAI, J., SASAMOTO, T. a KOJIMA, H. Infulence of powder characteristic of ZnO on antibacterial activity. *Journal of the eramic society of Japan* [online]. 1998, **106** [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z doi: 10.2109/jcersj.106.1007
- [48] LIU, Y., HE, L., MUSTPHA, A., LI, H., HU, Z.Q. a LIN, M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2009, **106**(4) [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z doi: 10.1111/j.1365-2672.2009-04303.x

- [49] NAIR, S., SASIDHARAN, A., DIVYA RANI, V. V., MENON, D., NAIR, S., MANZOOR, K. a RAINA, S. Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2009, **20**(S1) [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z doi: 10.1007/s10856-008-3548-5. ISSN 0957-4530
- [50] AYDIN SEVINÇ, Berdan a Luke HANLEY. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. 2010, **9999B** [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 15524973. Dostupné z doi: 10.1002/jbm.b.31620
- [51] YANG, Jae-Hun, Ji-Hee LEE, Hyeon-Ju RYU, Ahmed A. ELZATAHRY, Zeid A. ALOTHMAN a Jin-Ho CHOY. Drug–clay nanohybrids as sustained delivery systems. *Applied Clay Science* [online]. 2016, **130**, 20-32 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2016.01.021
- [52] MENG, Na, Ning-Lin ZHOU, Shuang-Quan ZHANG a Jian SHEN. Controlled release and antibacterial activity chlorhexidine acetate (CA) intercalated in montmorillonite. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2009, **382**(1-2), 45-49 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 03785173. Dostupné z doi: 10.1016/j.ijpharm.2009.08.004
- [53] MENG, N, N ZHOU, S ZHANG a J SHEN. Synthesis and antimicrobial activities of polymer/montmorillonite–chlorhexidine acetate nanocomposite films. *Applied Clay Science* [online]. 2009, **42**(3-4), 667-670 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01691317. Dostupné z doi: 10.1016/j.clay.2008.06.016
- [54] PANIGRAHI, J., BEHERA, D., MOHANTY, I., SUBUDHI, U., B. NAYAK, B. a S. ACHARYA, B. Radio frequency plasma enhanced chemical vapor based ZnO thin film deposition on glass substrate: A novel approach towards antibacterial agent. *Applied Surface Science* [online]. 2011, **258**(1), 304-311 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 01694332. Dostupné z doi: 10.1016/j.apsusc.2011.08.056
- [55] PADMAVATHY, N. a VIJAYARAGHAVAN, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study. *Science and Technology of Advanced*

- Materials* [online]. 2016, **9**(3) [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 1468-6996. Dostupné z doi: 10.1088/1468-6996/9/3/035004
- [56] Chlorhexidine. *Chlorhexidine facts* [online], [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z: <http://chlorhexidinefacts.com/>.
- [57] SARASWATHI S. *Chlorhexidine*. BDS Final Year. Slide Share [online]. 2013 [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z: <https://www.slideshare.net/SachuSomasundaram/chlorhexidine>.
- [58] BALAGOPAL, Shruti a ARJUNKUMAR, Radhika. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplatelet Agent. *Journal of Pharmaceutical sciences and Research*. 2013, **5** (12), 270- 274. ISSN: 0975-1459
- [59] BANDELIN. *Processing vessels for direct processing*. Bandelin, Sonoplus [online]. 2016 [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z: http://bandelin.com/produkte/ultrasonic_homogenizers/sonopuls-accessories/sonopuls-hd-beschallungsgefasse-direkte-beschallung/?lang=en
- [60] ČECH BARABASZOVÁ, Karla, MAMULOVÁ KUTLÁKOVÁ, Kateřina, HOLEŠOVÁ, Sylva, RITZ, Michal a SIMHA MARTYNKOVÁ, Grażyna. *Vybrané instrumentální metody analýzy materiálů a nanomateriálů*. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2012. ISBN 978-80-7204-810-6
- [61] MALVERN. *Laser diffraction* [online]. Malvern Instruments Ltd., 2009. [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z: <http://www.malvern.com/en/products/technology/laser-diffraction/>
- [62] BARABASZOVÁ, Karla Čech a Marta VALÁŠKOVÁ. Characterization of vermiculite particles after different milling techniques. *Powder Technology* [online]. 2013, **239**, 277-283 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 00325910. Dostupné z doi: 10.1016/j.powtec.2013.01.053
- [63] PECHOUŠEK, Jiří. *Měření plochy povrchu pevných látek a určování jejich porozity metodou sorpce plynu*. Univerzita Palackého-Olomouc [online]. 2010 [cit. 22. 4. 2017]. Dostupné z: <https://fyzika.upol.cz/cs/system/files/download/vujtek/ostatni/BET.pdf>

- [64] KHAORAPAPONG, N., KHUMCHOO, N. A OGAWA, M. Preparation of zinc oxide-montmorillonite hybrids. *Materials Letters* [online]. 2011, **65**(4), 657-660 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 0167577x. Dostupné z doi: 10.1016/j.matlet.2010.11.052
- [65] SANI, Hannatu Abubakar, Mansor B. AHMAD, Mohd Zobir HUSSEIN, Nor Azowa IBRAHIM, Aminu MUSA a Tawfik A. SALEH. Nanocomposite of ZnO with montmorillonite for removal of lead and copper ions from aqueous solutions. *Process Safety and Environmental Protection* [online]. 2017, **109**, 97-105 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 09575820. Dostupné z doi: 10.1016/j.psep.2017.03.024
- [66] HOLEŠOVÁ, Sylva, Marta VALÁŠKOVÁ, Eva PLEVOVÁ, Erich PAZDZIORA a Kateřina MATĚJOVÁ. Preparation of novel organovermiculites with antibacterial activity using chlorhexidine diacetate. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2010, **342**(2), 593-597 [cit. 22. 4. 2017]. ISSN 00219797. Dostupné z doi: 10.1016/j.jcis.2009.10.051
- [67] SOCRATES, G. Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts. 3rd ed. New York: Wiley, 2001. ISBN 0-471-85298-8
- [68] FARMER, V.C. The Infrared Spectra of Minerals. The Mineralogical Society, London. 1974.